

UNIVERSITE DE NANTES

UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES DE NANTES

ANNEE 1970 - 1971

(70)
N° 11

MENTION TRÈS HONORABLE
avec félicitations du jury,
proposition d'impression aux frais
de l'État et avis favorable pour
l'échange avec les Universités
et les Facultés étrangères

THESE

POUR LE

DOCTORAT D'ETAT EN PHARMACIE

PAR

JEAN-FRANÇOIS VERBIST

né le 18 février 1943 à NANTES (Loire-Atlantique)
Pharmacien

Licencié es Sciences

Assistant à la Faculté

Présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1971

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES GLUCOALCALOIDES
DES SOLANACEES INDIGENES**

MEMBRES DU JURY :

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. MONNET, PRESIDENT

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. FOUCAUD, JUGE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. ROUZET, JUGE

UNIVERSITE DE NANTES

UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES DE NANTES

ANNEE 1970 - 1971

N°

THESE

POUR LE

DOCTORAT D'ETAT EN PHARMACIE

PAR

JEAN-FRANÇOIS VERBIST

né le 18 février 1943 à NANTES (Loire-Atlantique)
Pharmacien

Licencié es Sciences

Assistant à la Faculté.

Présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1971

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES GLUCOALCALOIDES
DES SOLANACEES INDIGENES**

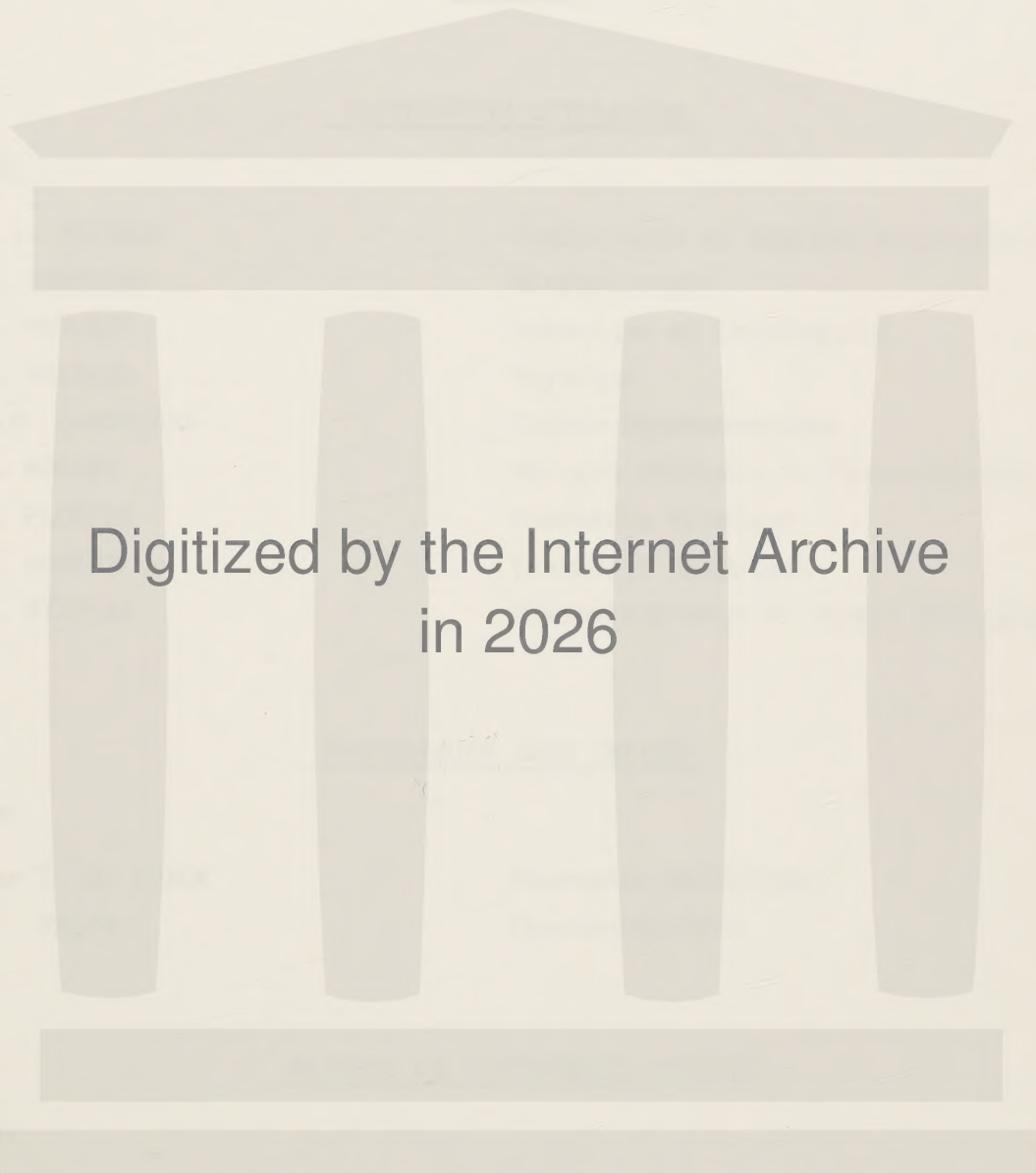
MEMBRES DU JURY :

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. MONNET, PRESIDENT

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. FOUCAUD, JUGE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. ROUZET, JUGE





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555419_0017

UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
DE NANTES

Doyen : M. A. FOUCAUD

Assesseur : M. L. SPARFEL

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.

H.L. BOITEAU	Toxicologie et Hygiène Industrielle
A. COURTIEU	Microbiologie
A. FOUCAUD	Botanique et Cryptogamie
R. GUIHARD	Physique
E.P. LOSSOUARN	Chimie Pharmaceutique
R. MONNET	Matière Médicale et Pharmacologie
J. PLOQUIN	Pharmacie Chimique
M. ROUZET	Pharmacie Galénique
Y. STEPHAN	Pharmacodynamie et Chimie Biologique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.

Mme Y. DE ROECK	Pharmacie Galénique
L. WELIN	Pharmacodynamie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM.

P. ARNAUD	Physique
Y. BRUNEAU (f.f.)	Chimie Minérale
Mme J. POISBEAU (f.f.)	Zoologie et Biologie Animale
H. REVEILLERE (f.f.)	Cryptogamie
L. SPARFEL (f.f.)	Chimie Organique

Conservateur de la Bibliothèque universitaire Mme GALKOWSKI

A mes parents,

A ma femme et à ma fille Séverine,

A ma famille,

A mes amis,

En témoignage de mon affection.

A Monsieur le Professeur R. M O N N E T

Professeur titulaire de Matière Médicale et de Pharmacologie

Vous nous avez inspiré le sujet
de notre thèse et vous nous avez
fait l'honneur d'accepter la pré-
sidence de notre jury.

Vous nous avez apporté, en maintes
occasions, aide et conseils.

Nous vous prions de trouver ici
le témoignage de notre profonde
reconnaissance et de notre fidèle
attachement.

A Madame J. P O I S B E A U

Maître de Conférences de Zoologie et Biologie animale (f.f.)

Pour les conseils et les encouragements
que vous nous avez prodigués,
Soyez assurée de notre gratitude.

A Monsieur le Professeur H.L. B O I T E A U

A Madame D E L A G U E R E N N E

A Madame D E N I S

A Monsieur F A U C H E R

Pour les facilités, les conseils et
l'aide que vous nous avez apportés
pour la réalisation de notre thèse,

Nous vous remercions sincèrement.

A Messieurs les Professeurs

de l'Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques

pour leur précieux enseignement.

A Messieurs les Chefs de Travaux, Maîtres Assistants, Assistants,

pour leur collaboration amicale.

Soyez assurés de notre profonde
reconnaissance.

A Monsieur L E B O T E R F F

dont la généreuse collaboration
technique nous permet de présenter
aujourd'hui ce travail.

A Mademoiselle A L B E R T

A Madame A M E S L A N T

A Mademoiselle C H E V A L I E R

pour le soin qu'elles ont apporté
à la réalisation de cet ouvrage.

Nous vous remercions vivement.

Par délibération du Conseil en date du 7 mai 1962, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

I N T R O D U C T I O N

Les glucoalcaloïdes peuvent être définis comme des hétérosides dont l'aglycone est de nature alcaloïdique .Ils ont été jusqu'à présent rencontrés dans la famille des Solanacées, principalement chez les genres *Solanum* et *Lycopersicum*, et parfois dans la famille des Liliacées (genre *Veratrum*).

Les glucoalcaloïdes des Solanacées étaient surtout étudiés dans la première moitié de ce siècle pour la toxicité et l'amertume qu'ils conféraient à la Pomme de terre et pour les propriétés antifongiques de certains d'entre eux. Puis, des chercheurs s'intéressèrent à l'effet répulsif qu'ils pouvaient présenter dans certaines variétés de Pommes de terre sauvages vis-à-vis du Doryphore et de ses larves. Actuellement, bien que certaines propriétés pharmacodynamiques aient été mises en évidence (activités cytostatique, anticholinestérasique,...), leur principal intérêt réside dans l'utilisation de leurs aglycones comme matière première pour l'hémisynthèse des hormones stéroïdiques.

De nombreuses études sur la nature, sur la quantité et sur la répartition des glucoalcaloïdes des diverses Solanacées ont été réalisées. Au cours de ces travaux, il est apparu qu'il pouvait se trouver, dans certaines espèces botaniquement définies, des différences de composition, pouvant correspondre à des variétés morphologiques ou simplement à des races chimiques génétiquement fixées. Ces races chimiques pourraient présenter des localisations géographiques préférentielles. Le Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Nantes, du Professeur MONNET, s'est intéressé depuis quelques années (96, 97) à la composition en glucoalcaloïdes de quelques Solanacées de la région nantaise.

Le présent travail a pour double objet :

. d'une part, la mise au point de méthodes d'extraction des glucoalcaloïdes qui sont le plus souvent introuvables dans le commerce, et de méthodes analytiques permettant de les mettre en évidence et de les doser,

. d'autre part, l'étude à l'aide de ces techniques, des glucoalcaloïdes des différents organes, en fonction des stades de végétation, de quatre Solanacées indigènes : la Douce-amère (*Solanum dulcamara* L.), la Morelle noire (*Solanum nigrum* L.), la Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et la Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.).

Ce travail est présenté en quatre chapitres intitulés :

- Glucoalcaloïdes des Solanacées
- Identification et dosage des glucoalcaloïdes des Solanacées et de leurs aglycones
- Extraction des Glucoalcaloïdes et de leurs aglycones
- Glucoalcaloïdes de quelques Solanacées indigènes.

Les modes opératoires des différentes techniques utilisées ont été réunis en annexe, à la fin de la thèse.

- ABREVIATIONS -

B. B. P.	: bleu de bromophénol
C.C.M.	: chromatographie en couche mince
M. O. 1, 2, 3, ... n.	: référence du mode opératoire décrit en fin d'ouvrage
T. M. S.	: dérivé triméthylsilylé

- VALEURS STATISTIQUES UTILISEES -

Nombre de résultats : n

$$\text{Moyenne arithmétique} : \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Variance} : v = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$\text{Erreur type} : \sigma_m = \sqrt{\frac{v}{n}}$$

Intervalle de confiance

sur l'erreur type (nous
avons adopté une proba-

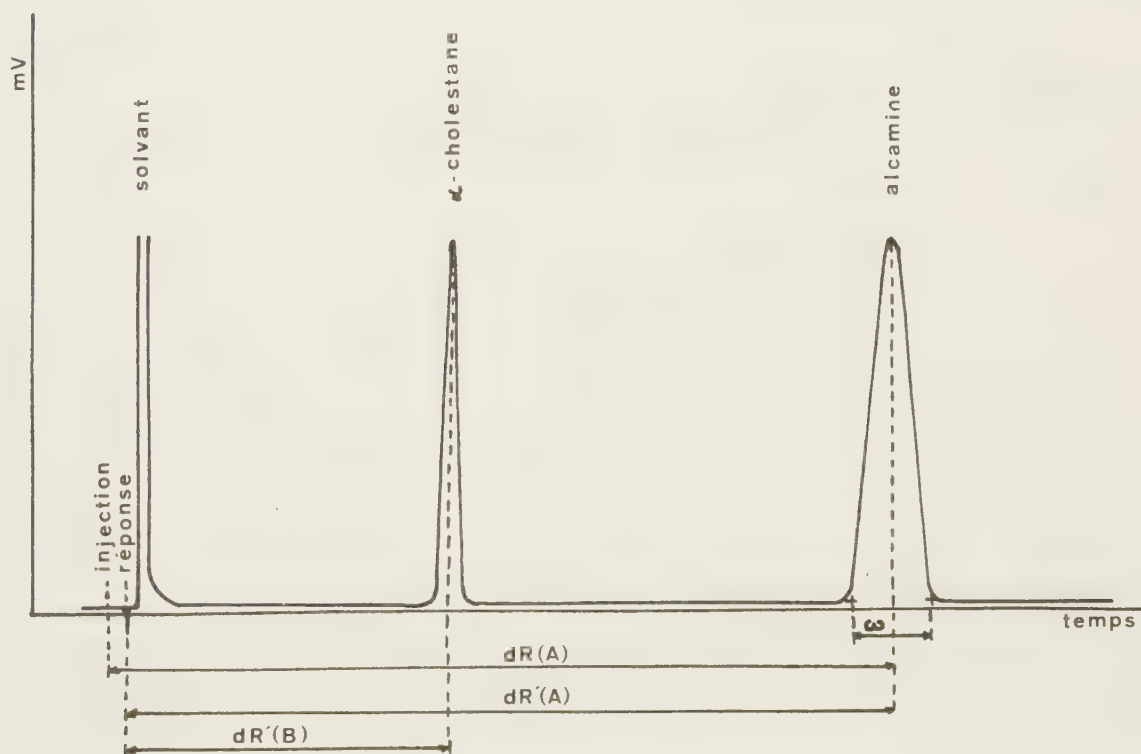
bilité de 95 %) : $\bar{x} \pm \sigma_m t$

- GRANDEURS CHROMATOGRAPHIQUES -

- Chromatographie en couche mince :

- R_f : Rapport de la distance parcourue par la tache mesurée à son maximum d'intensité, à la distance parcourue par le front du solvant.

- Chromatographie gazeuse :



- $dR(A)$: distance de rétention de l'alcamine

- $dR'(A)$: distance de rétention réduite, correspondant à la soustraction de la distance de rétention due au volume mort de l'appareillage. Elle est calculée à partir de la dépression provoquée par l'injection lorsque le débit d'hydrogène est réglé au minimum.

- $dR'(B)$: distance de rétention réduite de l' α -cholestane ajouté au mélange comme étalon, ce qui est habituel pour l'analyse des stéroïdes (350, 119, 226, 347, 62, 327,...)

$$\alpha_{AB} = \frac{dR'(A)}{dR'(B)} : \text{grandeur de rétention réduite relative à l' } \alpha \text{ -cholestane}$$

$$\text{- Nombre de plateaux théoriques : } n = 16 \left(\frac{dR'}{\omega} \right)^2$$

ω : distance entre les points d'intersection des tangentes aux points d'inflexion avec la ligne de base

Le nombre de plateaux a été habituellement déterminé pour les structures solanidanine et tomatanine.

- R_{AB} : facteur de résolution ; il correspond à l'aptitude de la colonne à séparer deux solutés A et B :

$$R_{AB} = 2 \frac{dR'(B) - dR'(A)}{\omega(B) - \omega(A)}$$

Deux solutés sont complètement séparés si $R \geq 1,5$: l'analyse quantitative est possible pour $R \geq 1$, l'analyse qualitative si $R \geq 0,5$, ces chiffres n'étant valables que pour des pics ayant sensiblement la même importance.

CHAPITRE I

GLUCOALCALOIDES DES SOLANACEES

Les glucoalcaloïdes* des Solanacées, comme ceux des Liliacées, libèrent par hydrolyse un à quatre sucres et une alcalamine stéroïdique en C₂₇.

Nous étudierons successivement :

- . la structure des alcalamines stéroïdiques des Solanacées, élargissant ainsi notre étude aux formes non isolées à l'état hétérosidique,
- . la structure des chaînes osidiques,
- . les combinaisons trouvées jusqu'à présent à l'état naturel.

* La dénomination "glucoalcaloïdes" peut appeler quelques réserves. Peut-être serait-il préférable de les nommer "alcaloïdosides", le suffixe "-oside" remplaçant avantageusement le préfixe "gluco-", évocateur de "glucide", mais surtout de "glucose". Cette dénomination correspondrait également mieux au terme anglosaxon "glycoalkaloïd", le radical "glyco-" dérivant de "glycoside" dont l'équivalence en français est "hétéroside".

STRUCTURE DES ALCAMINES STEROIDIQUES DES SOLANACEES

I - REGLES DE NOMENCLATURE ET DE REPRESENTATION

Nous avons suivi les règles de nomenclature des stéroïdes, élaborées en 1967 (378) par la commission I. U. P. A. C. de la nomenclature de chimie organique (C.N.O.C.) et la commission I. U. P. A. C. - I. U. B. de la nomenclature biochimique (C.N.B.)

Les règles que nous avons eu à utiliser sont résumées ci-après.

. La numérotation des atomes de carbone s'effectue comme il est indiqué pour l' α -cholestane (figure n° 1).

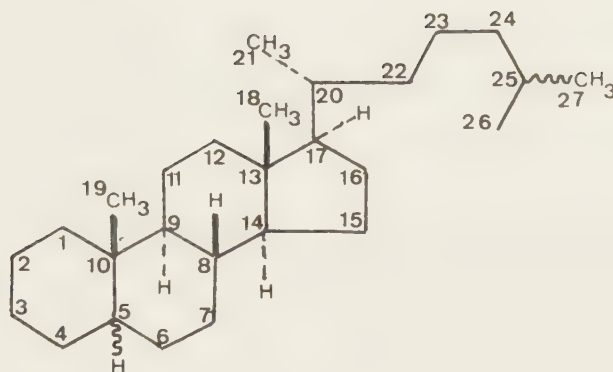


Figure n° 1 - α -Cholestane

. Le squelette stéroïdique est représenté comme se trouvant dans le plan de la feuille. Un substituant situé au-dessus du plan est dit en position β et sa liaison est représentée par un trait épaissi (—) ; au-dessous du plan, il est dit en position α et sa liaisons est représentée par un trait interrompu (---) ; une position non précisée est indiquée par une ligne ondulée (~~) et formulée par la lettre ξ (xi).

. Lorsque la position des groupements CH_3 18 et 19 et des hydrogènes en C-8, C-9 et C-14 n'est pas précisée, il est sous-entendu que ces substituants sont respectivement situés en 10β , 13β , 8β , 9α et 14α tel que cela est représenté sur la figure n° 1. De même, les chaînes situées en C-17 seront supposées, sauf modification contraire, branchées en position β .

. Lorsqu'une chaîne latérale en C-17 possédant un carbone C-20 assymétrique, est représentée selon la projection de FISCHER (figure n° 2), de telle façon que les substituants latéraux soient situés plus "près" de l'observateur, le substituant situé à droite est dit en position α et celui situé à gauche en position β .

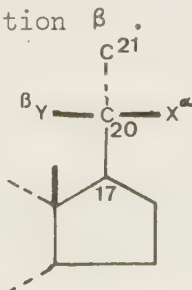


Figure n° 2

Si cette nomenclature $20\alpha / 20\beta$ est conservée en raison d'une longue tradition (378), la règle des séquences (137) est actuellement, en général, préférée, surtout si la chaîne latérale est importante.

Cette règle des séquences peut être schématisée dans les trois propositions suivantes :

. Les substituants sont classés suivant un ordre préférentiel selon les numéros atomiques décroissants des atomes liés au centre asymétrique : a, b, c, d. Si la priorité relative de deux groupes ne peut être déterminée, on compare les numéros atomiques des atomes substituant les atomes identiques et ainsi de suite ; par exemple, si nous considérons le butan-2-ol (figure n° 3), le groupe contenant le carbone 3 qui est substitué par 2 atomes d'hydrogène et un groupement méthyl sera classé avant le groupe du carbone 1 substitué par 3 atomes d'hydrogène ; la séquence sera dans ce cas : OH (a), C_2H_5 (b), CH_3 (c), H (d).

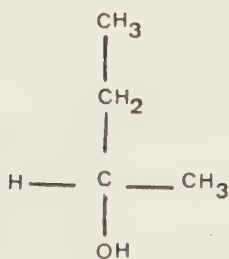


Figure n° 3

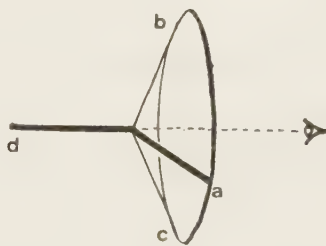


Figure n° 4

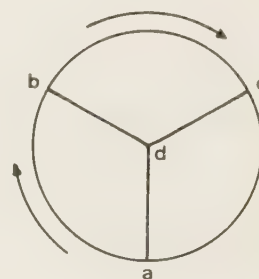


Figure n° 5

. La liaison portant "d" étant supposée orientée dans le prolongement du regard de l'observateur (figure n° 4), les substituants a, b et c peuvent être inscrits sur un cercle perpendiculaire en son centre à cet axe ; si la succession des lettres $a \rightarrow b \rightarrow c$ décrit un cercle dans le sens des aiguilles d'une montre, nous serons en présence d'une forme R (Rectus) (figure n° 5) et dans le cas inverse, en présence d'une forme S (Sinister).

. Pour différencier sur une formule donnée utilisant la projection de FISCHER la forme *R* de la forme *S*, le sens de rotation $a \rightarrow b \rightarrow c$ est directement lu, si le substituant *d* est situé à la partie inférieure (figure n° 6) ; dans le cas où *d* est placé différemment, il est nécessaire de l'échanger avec le substituant situé à cette place et d'inverser la position des deux autres substituants (figure n° 7).

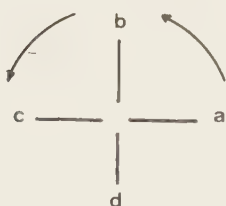


Figure n° 6
(Forme *S*)

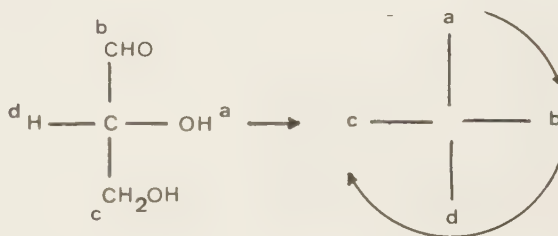


Figure n° 7
(Forme *R*)

Ces règles sont appliquées également aux autres centres asymétriques non inclus dans les cycles A, B, C, D.

La représentation d'un échaffaudage en C-17 doit être dessiné comme couché sur la feuille de papier (traits non renforcés). La stéréochimie des substituants est indiquée en traits interrompus ou renforcés.

II - STRUCTURE DES ALCAMINES STEREOIDIQUES*

En accord avec la nomenclature de la commission I.U.P.A.C. - I.U.B. (378), les vingt cinq alcalamines stéroïdiques rencontrées dans les Solanacées à l'état naturel et de structure connue, dérivent de quatre têtes de série :

- . de la "solanidanine"
- . de la "tomatanine"

*Une importante mise au point sur la structure des alcalamines et des glucocalcoïdes a été publiée par SCHREIBER en 1968 (308)

- . du "spirostane"
- . du "cholestane"

A - GROUPE DE LA SOLANIDANINE

Sous cette dénomination, on entend la structure représentée figure n° 8.

La position de certains substituants de carbones assymétriques est, sauf indication contraire, déterminée : 8β H, 9α H, 10β CH₃, 13β CH₃, 14α H, ce qui est habituel, et en plus 16α H, 17α H et 20 S . Il reste donc nécessaire de préciser la position des substituants en 5, 22 et 25.

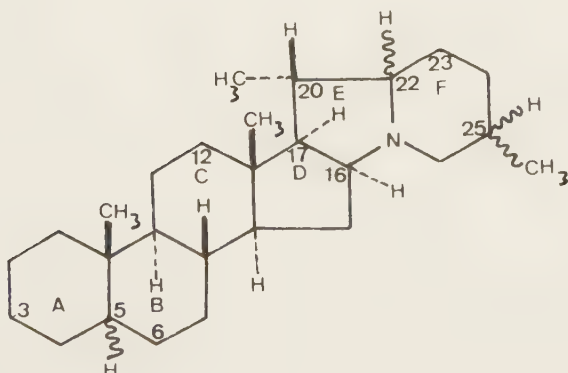


Figure n° 8 - Solanidanine

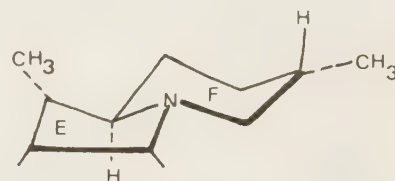


Figure n° 9

Toutes les alcalamines de ce groupe trouvées à l'état naturel possèdent :

- . un groupement hydroxylé en 3β ,
- . une structure 22 R ,25 S , c'est-à-dire que l'hydrogène en 22 est situé derrière le plan des cycles et le méthyl en 25 également. La formule dans l'espace (138) des cycles E - F est représentée figure n° 9 ; on peut y remarquer la forme chaise du cycle F et la position équatoriale du méthyl en C-25.

Elles diffèrent par la présence ou l'absence :

- . d'un groupement hydroxylé en C-23 qui peut être acétylé,
- . d'une double liaison en 5 (6). Lorsque celle-ci n'existe pas, l'hydrogène en 5 peut se trouver en position α ou β , ce qui correspond dans le premier cas à une disposition des cycles A : B - trans (figure n°10), et dans le second cas à une disposition A : B -cis (figure n°11).

Les alcalamines naturelles actuellement connues sont (figure n° 12) :

- . le (22 R ,25 S) - solanid-5-énin-3 β -ol ou solanidine (anciennement solanidine t, solatubine),
- . le (22 R ,25 S) -5 α -solanidanin-3 β -ol ou démissidine,
- . le (22 R ,25 S) -5 β -solanidanin-3 β -ol (14),
- . le (22 R ,25 S) -solanid-5-énin-3 β , 23 β -diol ou leptinidine,
- . le (22 R ,25 S) -23 β -acétoxy-solanid-5-énin-3 β -ol ou O(23)acétate de leptinidine,

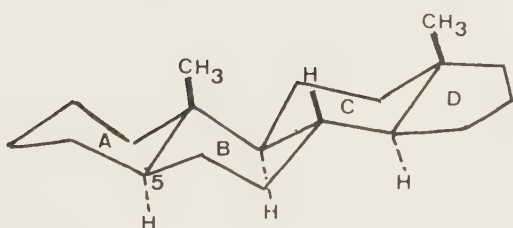


Figure n° 10 - 5 α -Stéroïde
(A : B - trans)

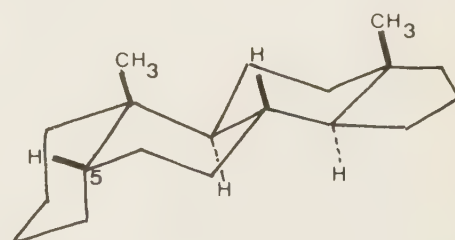
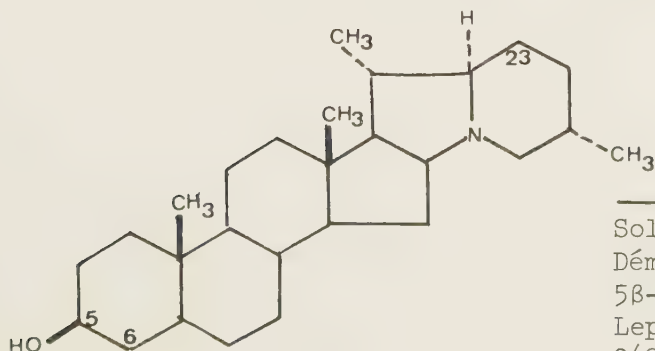


Figure n° 11 -5 β -Stéroïde
(A : B - cis)



	5	23
Solanidine	5-ène	-
Démissidine	5 α (H)	-
5 β -Solanidanin-3 β -ol	5 β (H)	-
Leptinidine	5-ène	23 β - OH
O(23)Acétate de leptinidine	5-ène	23 β -O-Ac

Figure n° 12

Chez les *Vératrum* (Liliacées), on rencontre des alcalamines stéroïdiques de structure analogue :

- . le (22 R, 25 S)-solanid-5-énin-3 β -12 α -diol ou rubijervine,
- . le (22 R, 25 S)-solanid-5-énin-3 β -18 -diol ou isorubijervine,
- . le (22 R, 25 S)-18-hydroxy-solanid-4-énin-3-one ou véralobine.

B - GROUPE DE LA TOMATANINE

La tomatanine correspond à la formule représentée figure n° 13. La position des substituants en 8, 9; 10, 13, 14 est déterminée ainsi que ceux en 16 (16 α H), en 17 (17 α H) et en 20 (20 S) ; seules restent à préciser les positions en C-5, C-27 et C-25.

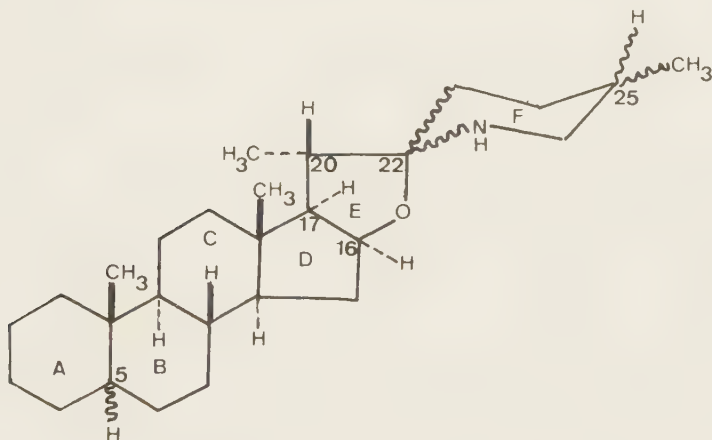


Figure n° 13 - Tomatanine

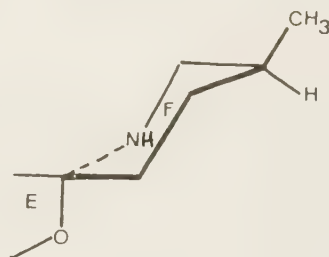


Figure n° 14

Sur cette formule, on remarque que le cycle F est sous la forme chaise plus stable et que sa position est "horizontale". La position "verticale" comme sur la figure n° 14, parfois préconisée (328), étant maintenant abandonnée (150, 138).

Selon leur configuration en C-22 et C-25, les dérivés naturels se classent en deux groupes : 22 R, 25 R (figure n° 15), et 22 S, 25 S (figure n° 16), dans lesquels le groupement méthyl en C-25 est toujours en position équatoriale. Les formes 22 R, 25 S et 22 S, 25 R n'ont pas été rencontrées.

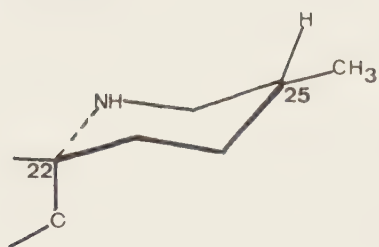


Figure n° 15 - Configuration
22R ,25R

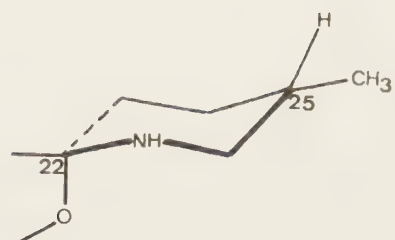
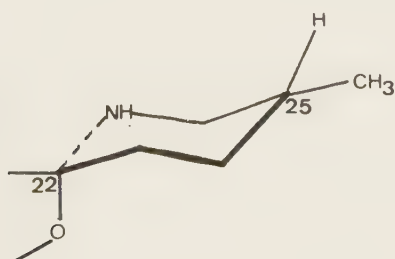


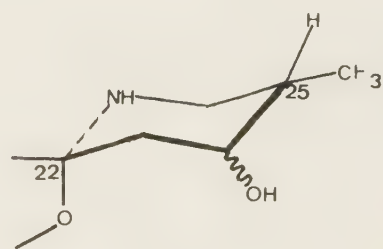
Figure n° 16 - Configuration
22 S ,25 S

Nous devons signaler, à propos des dérivés de la tomatanine, que d'autres dénominations ont été employées pour exprimer la position des substituants en 22 et 25. Ainsi 22 α N remplace 22 R et 22 β N, 22 S (308, 133). En C-25, les dénominations *D* et *L*, dans lesquelles *D* est utilisé pour les substituants situés à droite lorsque l'on regarde le cycle, le carbone 25 situé en haut et l'hétéroatome en arrière de la feuille et *L* pour ceux situés à gauche, ont été proposées (206).

Ceci présentait l'intérêt de ne pas modifier l'appellation du squelette lors de certaines substitutions possibles, comme cela est représenté sur la figure n° 17.



25R (25 *D*)



25S (25 *D*)

Figure n° 17

Ces dénominations n'ont pas été retenues par la commission I.U.P.A.C. - I.U.B. (378).

Onze alcanes stéroïdiques dérivées de la tomatanine ont été trouvées, jusqu'à présent, à l'état naturel. Ce sont :

- . 1e (22 R,25 R)-5 α -tomatanin-3 β -ol ou soladulcidine,
- . 1e (22 R,25 R)-tomat-5-énin-3 β -ol ou solasodine (anciennement solanidine s),
- . 1e (22 S,25 S)-5 α -tomatanin-3 β -ol ou tomatidine,
- . 1e (22 S,25 S)-tomat-5-énin-3 β -ol ou tomatidénol,

et des dérivés hydroxylés en 15 de ces substances :

- . 1e (22 R,25 R)-5 α -tomatanin-3 β ,15 α -diol ou 15 α -hydroxy-soladulcidine (244, 242),
- . 1e (22 R,25 R)-5 α -tomatanin-3 β ,15 β -diol ou 15 β -hydroxy-soladulcidine (308 p. 30),
- . 1e (22 R,25 R)-tomat-5-énin-3 β ,15 α -diol ou 15 α -hydroxy-solasodine (244),
- . 1e (22 R,25 R)-tomat-5-énin-3 β ,15 β -diol ou 15 β -hydroxy-solasodine (308 p. 30),
- . 1e (22 S,25 S)-5 α -tomatanin-3 β ,15 α -diol ou 15 α -hydroxy-tomatidine (244, 242),
- . 1e (22 S,25 S)-tomat-5-énin-3 β ,15 α -diol ou 15 α -hydroxy-tomatidénol (244).

Ainsi que :

- . 1e (22 R,25 R)-3 β -hydroxy-5 α ,14 β (H)-tomatanin-15-one ou 15-oxo-soladulcidine, (308 p. 30) qui provient probablement d'une isomérisation en C-14 lors de l'hydrolyse en milieu acide du dérivé 14 α (H) correspondant (308).

Les formules de ces composés sont représentées sur les figures n° 18 et n° 19.

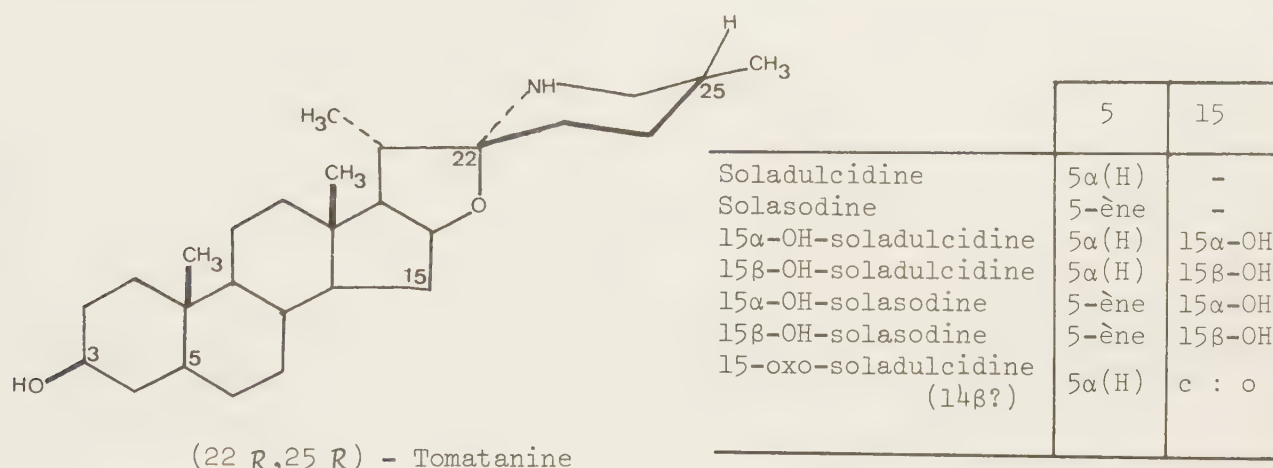


Figure n° 18

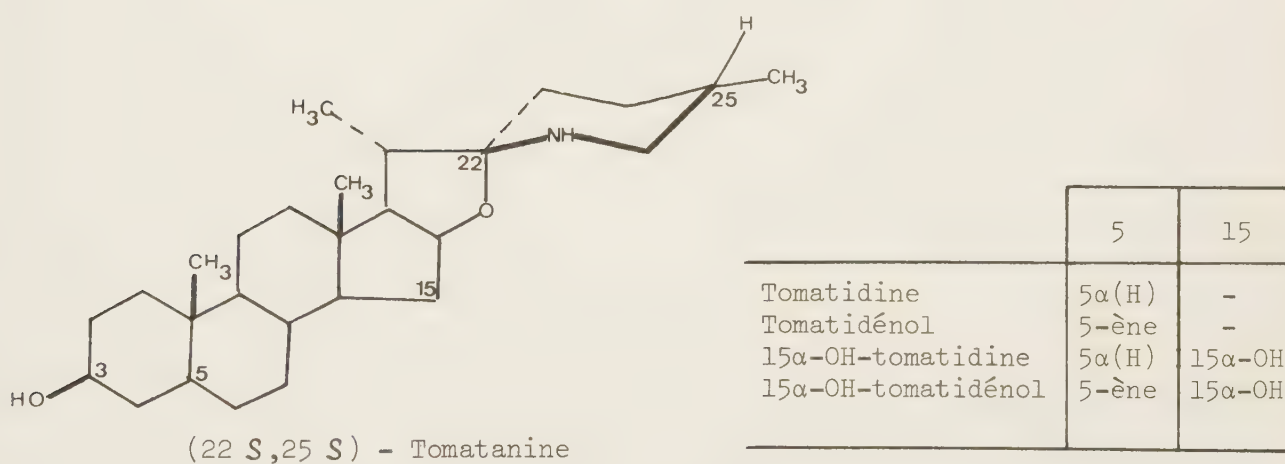


Figure n° 19

Nous indiquerons, pour terminer, quelques anciennes appellations afin de préciser la nature des substances auxquelles elles s'appliquent :

. la soladulcamaridine (234) est un mélange de tomatidéno1 accompagné de traces d'un produit provenant de sa déshydratation, le (22 S,25 S)-tomata-3,5-diène (= tomatidiène) et de solasodine (39),

. la mégacarpidine (172) a été identifiée à la soladulcidine (173),

. la saularicidine, considérée longtemps comme un aglycone (22, 9) était en réalité un mélange de solasodine et de son galactoside (55),

. la solanocarpidine (256) est identique à la solasodine (49), de même que la purapuridine (183, 21).

C - GROUPE DU SPIROSTANE

On désigne sous ce nom la structure représentée figure n° 20 ; elle correspond au remplacement de l'azote du cycle F de la tomatanine, par un oxygène.

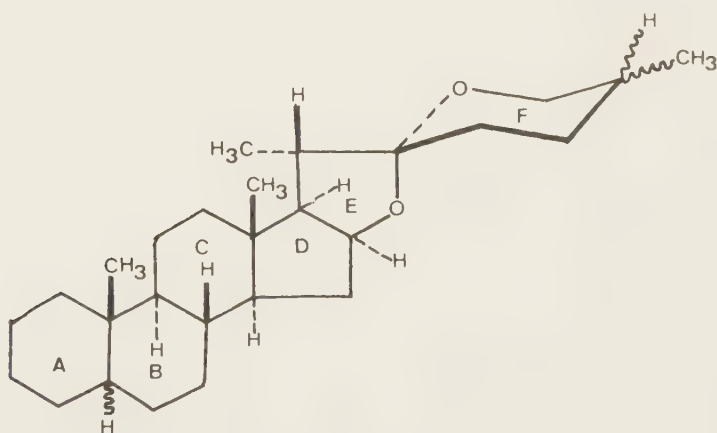


Figure n° 20

Cette dénomination sous-entend donc comme précédemment, et sauf indication contraire, les substitutions 8β H, 9α H, 10β CH₃, 14α H, 16α H, 17α H, 20 S et également 22 R ; seules restent à préciser les positions des substituants en C-5 et en C-25.

Ce groupe comprend de nombreux sapogénines que l'on trouve couramment chez les Solanacées.

Les alcalamines des Solanacées appartenant à ce groupe, dérivent du 3-amino-spirostane. Elles peuvent être considérées comme formant un groupe intermédiaire entre les sapogénines et les alcaloïdes.

Trois alcanamines de ce type sont actuellement connues à l'état naturel (figure n° 21) ; ce sont :

- . le (25 S)-3 β -amino-5 α -spirostane (307, 235, 301) ou jurubidine,
- . le (25 S)-3 β -amino-5 α -spirostan-9 α -ol (301, 236) ou néopaniculidine,
- . le (25 R)-3 β -amino-5 α -spirostan-9 α -ol (301, 198a, 236) ou paniculidine.

Les deux dernières alcanamines n'ont pas encore été fractionnées.

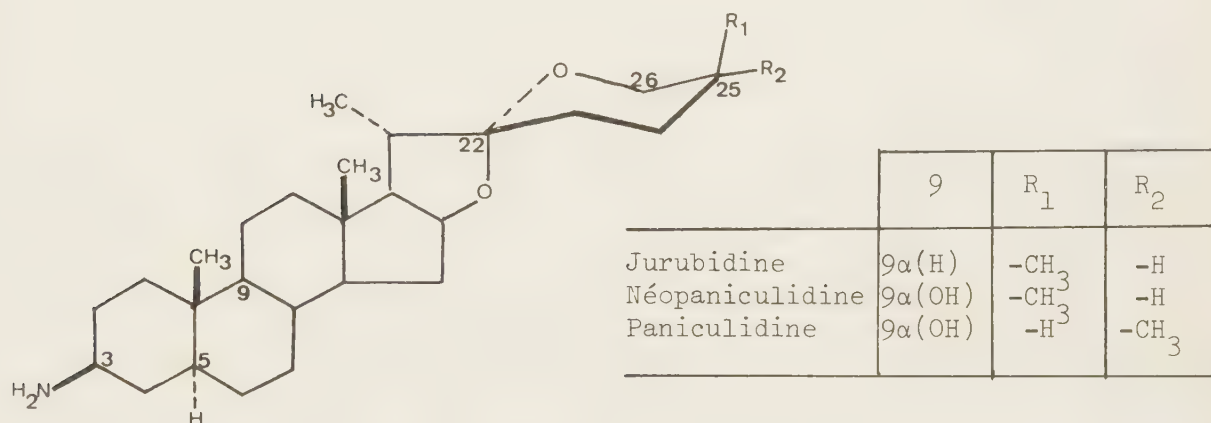


Figure n° 21

D - GROUPE DU CHOLESTANE

Les alcanamines de ce groupe ne sont rattachées au cholestane que parce qu'il n'existe pas dans la nomenclature de têtes de série correspondantes ; tous les aglycones étudiés jusqu'à présent auraient pu être considérés comme dérivant du cholestane.

On peut dans cette catégorie dégager deux structures de base :
le 22, 26-épimino-cholestane et le 22, 26-épimino-16 α , 23-époxycholestane.

Alcamines dérivées du 22,26-épiminocholestane

Les alcamines de ce groupe (figure n° 22) possèdent comme pour le cholestane la structure 8β H, 9α H, 10β CH₃, 14α H, 17α H, et également la structure 20 S.

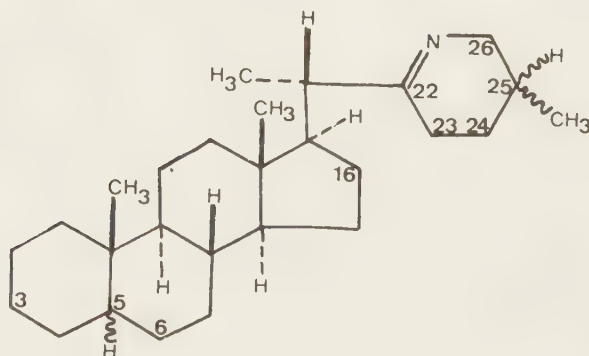


Figure n° 22 - 22,26-Epiminocholestane

Les aglycones rencontrées à l'état naturel chez les Solanacées sont tous 3β -hydroxylés. Il diffèrent par la présence ou l'absence

- . d'une double liaison en 5 (6),
- . d'un hydroxyle en 16α ,
- . d'un carbonyle en C-23 ou C-24.

Ce sont (figure n° 23) :

- . 1a (25 S)-22,26-épimino-3 β -hydroxy-cholesta-5,22(N)-dién-24-one ou tomatillidine (24, 26),
- . 1a (25 S)-22,26-épimino-3 β -hydroxy-5 α -cholest-22(N)-én-23-one ou 23-oxo-solacongestidine (269),
- . 1e (25 S)-22,26-épimino-3 β -hydroxy-5 α -cholest-22(N)-én-24-one ou 5 α ,6 dihydrotomatillidine ou 24-oxo-solacongestidine (26, 269),
- . 1e (25 R)-22,26-épimino-5 α -cholest-22(N)-én-3 β -ol ou solacongestidine (269, 26, 297),

- . le (25 *R*)-22,26-épimino-5 α -cholest-22(*N*)-én-3 β ,16 α -diol ou solafloridine (269).

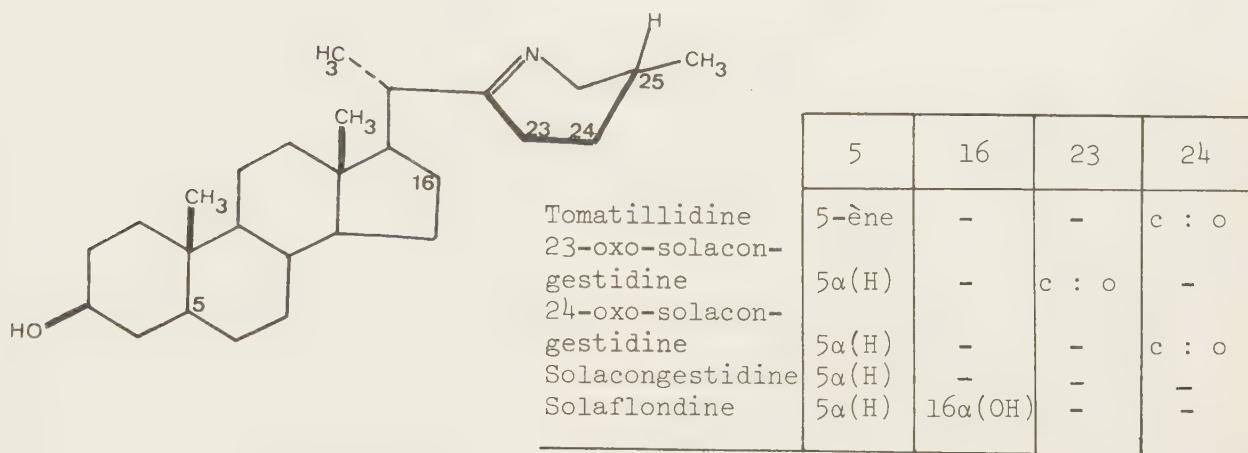


Figure n° 23

Certaines alcalamines dérivées de cette structure ont été rencontrées chez les Veratum (Liliacées):

- . le (25 *S*)-22,26-épiminocholesta-5,22(*N*)-dién-3 β -ol ou vérazine (329, 3, 4, 330),
- . le (22 ξ ,25 ξ)-22,26-épaminocholest-5-én-3 β ,12 ξ ,16 β -triol ou bakéine dont la conformation est encore mal déterminée (308 p. 62).

Alcalamines dérivées du 22,26-épamino-16 α ,23-époxycholestane

Un seul représentant de ce groupe est connu, dont la structure vient d'être précisée par RIPPERGER et SCHREIBER (237), le (22*R*,25*S*)-3 β -amino-22,26-épamino-16 α ,23-époxy-5 α -cholestan-23 β -ol ou solanocapsine (figure n° 24).

Les autres substituants des carbones assymétriques sont orientés comme pour le cholestane, celui en C-20 étant dans la position 20*S*.

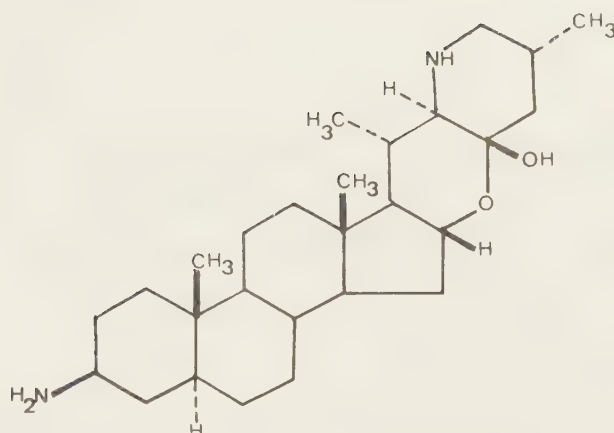


Figure n° 24 - Solanocapsine

E - ALCAMINES A STRUCTURE MAL DETERMINEE

La structure de certaines alcalamines est encore mal déterminée ;
c'est le cas de :

- . la pimpinellidine ($C_{27}H_{45}NO_3$) (305) qui posséderait une structure dihydroxyspirosolane (23 ξ -hydroxytomatidine ?) (308 p.47),
- . la solangustidine ($C_{27}H_{43}NO_2$) (341),
- . l'aglycone trouvé dans *Solanum panduræ* forme ($C_{27}H_{43}NO_2$) (358) qui pourrait être un isomère de la solasodine (229 p. 270).

III - RELATIONS STRUCTURALES ENTRE LES DIVERSES ALCAMINES ET AVEC

CERTAINES SAPOGENINES

Les structures des différentes alcalamines étudiées ci-dessus, ne sont pas sans présenter une certaine analogie entre elles et avec celles de certaines sapogénines (figure n° 25).

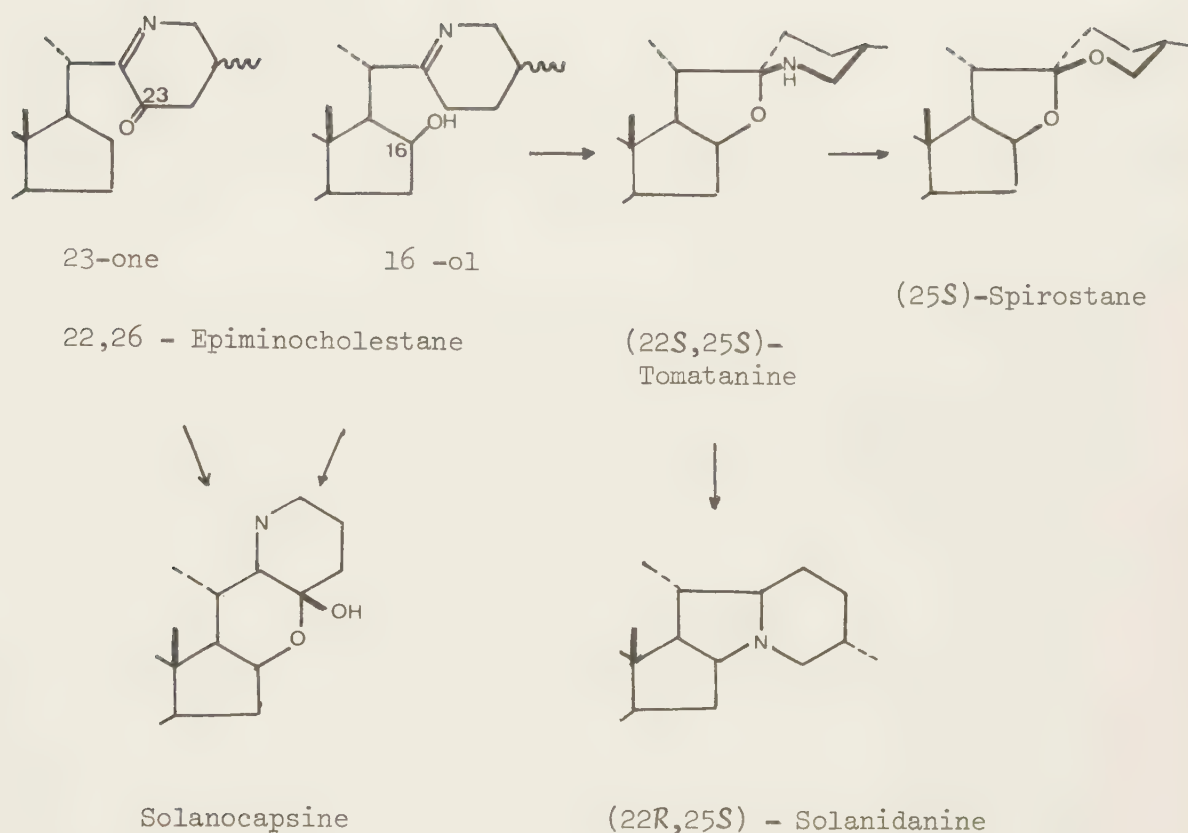


Figure n° 25

Il semble d'ailleurs qu'il existe dans la plante un tautomérisme entre les formes tomatanine et épiminocholestane, la forme cyclique prédominant cependant largement à l'équilibre (figure n° 26)(286). De même la transformation de solafloridine en solanocapsine est considérée par SATO (269) comme une étape possible de la biosynthèse de cette alcaloïde. Certaines de ces interconversions ont été réalisées au laboratoire (148, 192, 286, 292).

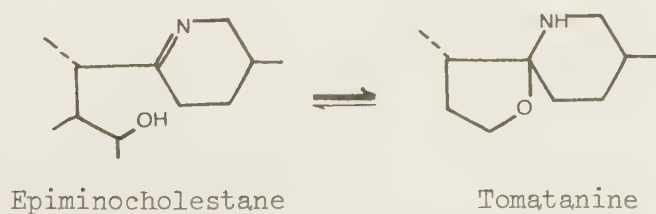


Figure n° 26

Si l'on remplace dans le cycle F de la tomatanine l'atome d'azote par un atome d'oxygène, on se trouve en présence de dérivés du spirostane (figure n° 25) d'où dérivent de nombreuses sapogénines rencontrées chez les Solanacées et certaines alcamines (aminospirostane). Ainsi à la solasodine, correspond la diosgénine, à la soladulcidine, la tigogénine, à la jurubidine, la néotigogénine. Il semble n'y avoir aucun doute que leur biosynthèse et leur métabolisme soient extrêmement liés (308).

Ainsi, on retrouve en général, chez les divers *Solanum*, la même configuration en C-25 des alcamines et des sapogénines qui voisinent (304, 266). HEGNAUER (134) considère les alcamines stréroïdiques comme biogénétiquement de simples dérivés des sapogénines correspondantes. La transformation de ces composés les uns dans les autres a été réalisée au laboratoire (343, 51, 268...).

STRUCTURE DES CHAINES OSIDIQUES

Les oses naturellement rencontrés dans les glucoalcaloïdes sont par ordre d'importance décroissante :

- . le D-glucose,
- . le L-rhamnose,
- . le D-Galactose,
- . le D-xylose,
- . le L-arabinose.

Ce dernier ose n'a été trouvé que deux fois (234, 83). BOLL considère l'arabinose qu'il a identifié avec RASMUSSEN (234), dans la soladulcamarine comme pouvant être un artefact provenant de la présence d'acide chlorhydrique dans le solvant de chromatographie, selon HARBORNE (128). SCHREIBER (280) pense qu'il pourrait s'agir d'un produit de décarboxylation enzymatique

de l'acide D-galacturonique qui serait présent dans la partie glucidique du glucoalcaloïde.

Ces oses se groupent en assemblages dont la structure a été quelquefois précisée : on connaît actuellement quatre structures principales

- . le lycotétraose,
- . le solatétraose,
- . le chacotriose,
- . le polyatriose.

Cinq autres structures en dérivent par la perte d'un ou deux oses. Certains enchaînements osidiques n'ont pas été élucidés.

LE LYCOTETRAOSE

Cette chaîne est constituée de :

- . 2 glucoses,
- . 1 galactose,
- . 1 xylose.

C'est le β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gluc.)- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3 gluc.)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4 gal.)- β -D-galactopyranose (figure n° 27).

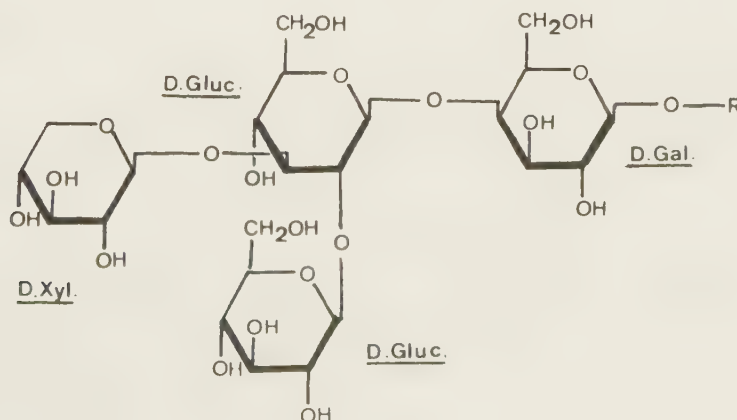


Figure n° 27

Ce tétraoside se rencontre dans l' α -tomatine (168) et la démissine (168). Le soladulcidine-tétraoside possède les mêmes composants osidiques, mais leur enchaînement n'a pas encore été déterminé avec certitude.

La perte du xylose conduit au lycotriose I ou β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3 gluc.)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4 gal.)- β -D-galactopyranose, qui constitue la partie osidique de la β_1 -tomatine (290, 168).

Par hydrolyse partielle de l' α -tomatine, on a pu obtenir par perte d'un glucose la β_2 -tomatine dont la chaîne sucrée correspond au lycotriose II (168), puis par perte du xylose, la γ -tomatine dont la partie osidique est nommée lycobiose (168) ; une hydrolyse plus complète libère la deuxième molécule de glucose (337), ce qui indique que la liaison avec l'aglycone s'effectue par l'intermédiaire du galactose.

LE SOLATETRAOSE

Il est constitué de :

- . 2 glucoses,
- . 1 galactose,
- . 1 rhamnose.

C'est l' α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gal.)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gluc.)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3 gal.)- β -D-galactopyranose (figure n°28).

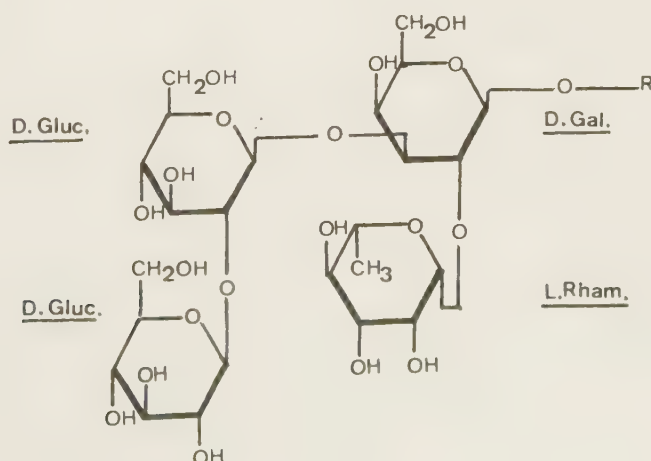


Figure n° 28

La liaison avec l'aglycone s'effectue par l'intermédiaire du galactose.

Les mêmes sucres ont été rencontrés dans le tétraoside de *Solanum mammosum*, mais leur mode de liaison n'a pas été précisé (316).

La perte d'une molécule de glucose conduit au solatriose ; c'est l' α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gal.)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3 gal.)- β -D-galactopyranose.

On trouve cette chaîne dans l' α -solanine (166, 164), l' α -solanine (57) et l' α -solamarine (42). Il est probable qu'elle se rencontre également dans la leptinine II qui accompagne l' α -solanine dans *Solanum chacoense* Bitt. (171).

Ces mêmes oses se retrouvent dans le trioside de *Solanum panduriforme* Drège (358), mais leur assemblage n'a pas été étudié.

Par perte de la molécule de rhamnose, on obtient le solabiose ou β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-galactopyranose qui entre dans la composition de la β -solanine (166) et de la δ -solamarine (243). Les deux mêmes oses ont été découvertes dans la solakhasianine (188), mais leur mode de liaison n'a pas été précisé.

L'hydrolyse partielle de la δ -solamarine libère la molécule de glucose (243) ; c'est donc le galactose qui est lié à l'aglycone.

LE CHACOTRIOSE

Cette chaîne est composée de :

- . 2 rhamnoses,
- . 1 glucose.

C'est 1' α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gluc.)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4 gluc.)- β -D-glucopyranose (figure n° 29).

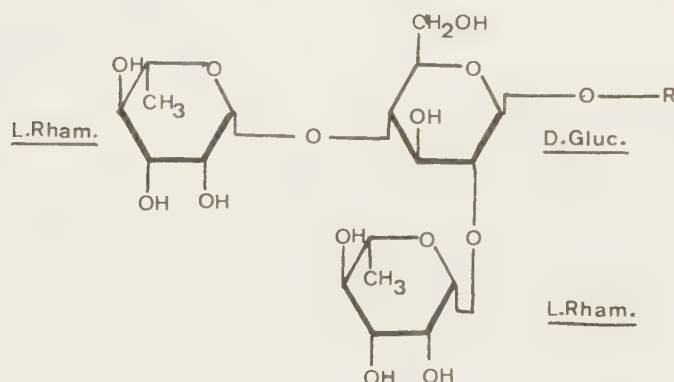


Figure n° 29

Il constitue la partie osidique de 1' α -chaconine (167), de 1' α -solamargine (BRIGGS - 308 p. 24), et de la β -solamarine (41). La leptine I et la leptinine I qui accompagnent 1' α -chaconine dans *Solanum chacoense* Bitt, possèdent probablement la même chaîne sucrée (171).

Par hydrolyse partielle sont obtenus deux chacobioses isomères : le α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranose et le α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranose. Le premier se rencontre dans la γ_1 -solamarine (243) et la β_1 -chaconine (167), le second dans la γ_2 -solamarine (41, 243) et la β_2 -chaconine (167). La β -solamargine qui existe à l'état naturel et qui a également été obtenue par hydrolyse partielle de 1' α -solamargine (165), correspond probablement à un mélange de β_1 et β_2 -solamargines possédant respectivement comme chaîne osidique, les chacobioses isomères précédents.

L'hydrolyse partielle de la β -solamargine (165) et de la γ -solamarine (41) libère une molécule de rhamnose ; la liaison avec l'aglycone s'effectue donc par l'intermédiaire de la molécule de glucose.

LE POLYATRIOSE

Il est constitué de :

- . 2 xyloses,
- . 1 glucose.

C'est le β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2 gluc.)- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3 gluc.)- β -D-glucopyranose (figure n° 30).

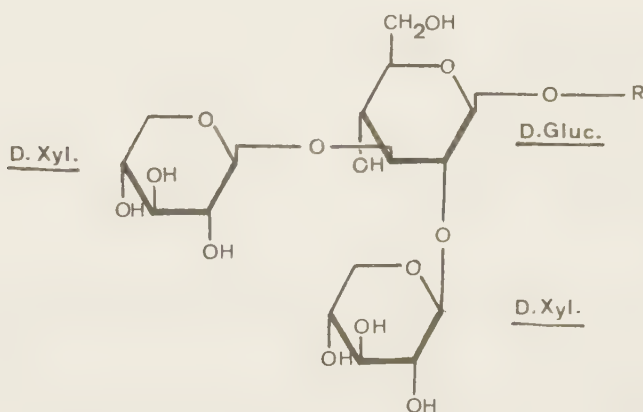


Figure n° 30

La liaison avec l'aglycone s'effectue par l'intermédiaire du glucose.

On le trouve dans la polyanine (296).

Le solasodine-trioside de *Solanum sinaicum* Boiss, (36, 189) et la solacauline (275) possèdent les mêmes composants osidiques, mais leur enchaînement n'a pas encore été déterminé.

ENCHAINEMENTS OSIDIQUES NON ELUCIDES

En plus de ceux précités, certains enchaînements n'ont pas encore été élucidés, ce sont :

- parmi les tétraosides, les chaînes :

- . 2 D-xyloses, D-glucose, D-galactose de la mégacarpine (172),
- . L-rhamnose, D-xylose, D-glucose, D-galactose de la solavilline (34),
- . 2 L-rhamnoses, D-glucose, D-galactose de la β -solani-grine (279),
- . 2 L-rhamnoses, L-arabinose, D-glucose de la soladulcamarine (234),

- parmi les triosides, les chaînes :

- . 2 D-glucoses, L-rhamnose du solasodine-trioside de *Solanum mammosum* L. (316),
- . Rhamnose, arabinose, glucose de la solanidine-trioside de *Solanum Wrightii* Benth. (83),

- parmi les diosides, la chaîne :

- . D-galactose, L-rhamnose de la solakhasianine (188).

GLUCOALCALOIDES RENCONTRES CHEZ LES SOLANACEES

Les alcalamines stéroïdiques présentées dans la première partie sont liées aux chaînes osidiques. Certains glucoalcaloïdes ne comportent qu'un seul ose.

La liaison s'effectue par la fonction réductrice de l'oside -sous la forme β dans les enchaînements connus- avec un groupement hydroxylé de l'alcamine. Ce groupement est généralement celui situé en C-3; cependant, dans le cas de la jurubine, dont l'alcamine, la juribidine (figure n° 21), possède à cette place une fonction amine, la liaison s'effectue sur hydroxyle situé en C-26 (235, 307) (figure n° 31), la cyclisation en noyau spirostane tel que se présente l'aglycone n'intervenant qu'après hydrolyse du glucoalcaloïde.

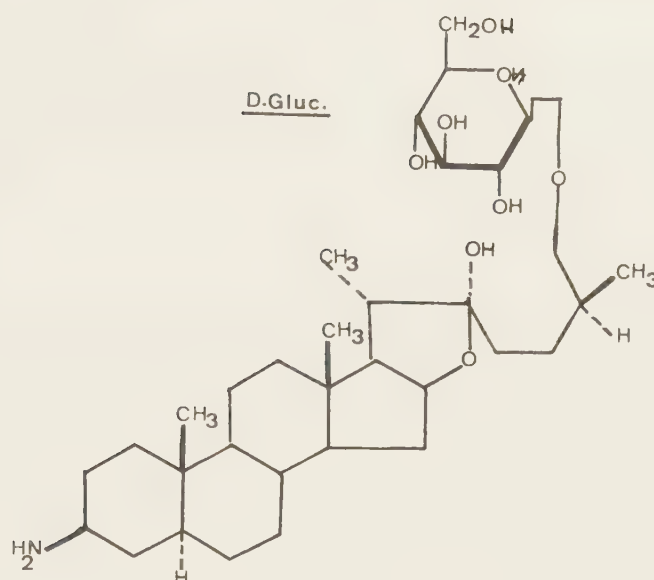


Figure n° 31 - Jurubine

Les glucoalcaloïdes rencontrés chez les Solanacées sont rassemblés dans le tableau n° 1. Pour certains, non identifiés, l'alcamine mentionnée a été mise en évidence dans le produit d'hydrolyse de glucoalcaloïdes totaux ; quant à la nature des oses, elle n'a pu encore être précisée. Pour d'autres, identifiés seulement par chromatographie, l'alcamine est seule connue.

En complément au tableau, il faut préciser que :

- . les leptinines qui y sont inscrites ne correspondent pas à des glucoalcaloïdes naturellement présents dans le végétal, mais à des produits de désacétylation qui se forment lors de l'extraction à partir de leptines sous l'action d'estérases ou d'un traitement alcalin (alumine par exemple) (170, 169).

- . quelques appellations ne figurent pas dans le tableau : la purapurine (183, 21), la solanocarpine (48, 256), la γ solanigrine (279), la solauricine (22, 55) ont été identifiées à la solasodine ; la solasodamine (53) a été identifiée au même aglycone hydraté (88) ; quant à la δ et la ϵ -solanigrine (85), elles sont respectivement identiques à l' α -solamargine et à la β -solamargine ;

- la solanocapsine non mentionnée au tableau, est la seule alcalamine des Solanacées qui ne semble pas exister à l'état hétérosidique.

Chez les Veratrum, parmi les alcalamines possédant une même structure de base que les alcalamines des Solanacées, une seule, l'isorubijervine a été isolée à l'état hétérosidique : elle est combinée au D-glucose dans l'isorubijervosine (152).

GLUCOALCALOIDES	AGLYCONES	SUCRES
Groupe de la solanidanine		
α -Solanine (=solanine)(ancien- nement solatunine, solanine t) (213, 81, 238)	Solanidine	D-Galactose, D-glucose, L-rhamnose (solatriose)
β -Solanine (164)	-	D-Galactose, D-glucose (solabiose)
γ -Solanine (164)	-	D-Galactose
α -Chaconine (164)	-	2-L-Rhamnoses, D-glucose (chacotriose)
$\beta_1\beta_2$ -Chaconines (164, 167)	-	D-Glucose, L-rhamnose (chacobioses Cf. p.28)
γ -Chaconine (164, 167)	-	D-Glucose
Solacauline (275)	-	2-D-Xyloses, D-glucose
Solanidine trioside de S. Wrightii Benth.(83)	-	Glucose, rhamnose, arabinose
Démissine (160, 159)	Démissidine	D-Galactose, 2 D-Glucoses, D-xylose(lycotétraose)
β_1 -Démissine (284)	-	2 D-Glucoses, galactose (lycotriose I)
Non identifié (s)(14)	5 β -solanidanin-3 β -ol	?
Leptinine I (170, 169, 171)	Leptinidine	2 L-Rhamnoses, D-glucose (chacotriose ?)
Leptinine II (170, 169, 171)	-	D-Galactose, D-glucose, L-rhamnose (solatriose ?)
Leptinine III (170, 169, 171)	-	?
Leptinine IV (170)	-	?
Leptine I (170, 169, 171)	0(23)-Acétate de Leptinidine	2-L-Rhamnoses, D-glucose (chacotriose ?)
Leptine III (170)	-	?
Leptine IV (170)	-	?

Tableau n° 1

Groupe de la tomatanine		
Soladulcicine tétraoside (36, 264)	Soladulcicine	2 D-Glucoses, D-xylose, D-galactose
Mégacarpine (172)	-	2 D-Xyloses, D-glucose, D-galactose
($\alpha+\beta+\gamma$)-Soladulcine (278)	-	L-Rhamnose, D-xylose, D-glucose, D-galactose
Non identifié (s) (244, 242)	15 α -OH-Soladulcicine	?
Non identifié (s) (308 p.30)	15 β -OH-Soladulcicine	?
Non identifié (s) (308 p.30)	15-oxo-Soladulcicine (14 β ?)	?
α -Solasonine (solasonine)(anciennement solanine s) (214, 165)	Solasodine	D-Glucose, D-galactose, L-rhamnose (solatriose)
α -Solamargine(solamargine)(165, 52)	-	2-L-Rhamnoses, D-glucose (chacotriose)
β -Solamargine ($\beta_1+\beta_2$ solamargine?) (56, 189)	-	L-Rhamnose, D-glucose
Solasodine trioside de S.mammosum L. (316)	-	2 D-Glucoses, L-rhamnose
Solasodine trioside de S.sinalcum Boiss. (189)	-	2 D-Xyloses, D-glucose
Solakhasianine (188)	-	x D-Galactose, y L-rhamnose
α -Solanigrine (279)	-	?
β -Solanigrine (279)	-	2 L-Rhamnoses, D-glucose, D-galactose
Solaradixine (28, 30)	-	2 D-Glucoses, L-rhamnose, D-galactose
Solasodine tétraoside de S.mammosum L. (316) (=solaradixine ?)	-	2 D-Glucoses, L-rhamnose, D-galactose
Solaradinine (28)	-	?
Solavilline (34)	-	L-Rhamnose, D-xylose, D-glucose, D-galactose

Tableau n° 1 (suite)

Non identifié (s) (244)	15 α -OH-Solasodine	?
Non identifié (s) (308 p.30)	15 β -OH-Solasodine	?
α -Tomatine (104, 161, 58...)	Tomatidine	2 D-Glucoses, D-xylose, D-galactose (lycotétrase)
β -Tomatine (284, 290)	-	2 D-Glucoses, D-galactose (lycotriose I)
Polyanine (296)	-	2 D-Xyloses, D-glucose (polyatriose)
Non identifié (s) (216, 242)	15 α -OH-Tomatidine	?
α -Solamarine (39)	Tomatidéol	L-Rhamnose, D-glucose, D-galactose (solatriose)
β -Solamarine (39)	-	2 L-Rhamnoses, D-glucose (chacotriose)
γ_1 et γ_2 -Solamarine (39, 243)	-	L-Rhamnose, D-glucose (chacobioses Cf.p.28)
δ -Solamarine (243)	-	D-Glucose, D-galactose (solabiose)
Soladulcamarine (234, 39)	-	2 L-Rhamnoses, L-arabinose, D-glucose
Non identifié (s) (244)	15 α -OH-Tomatidéol	?
Groupe du 3 -amino- spirostane		
Jurubine (307, 235)	Jurubidine	D-Glucose
Paniculine (198 a)	Paniculidine (+ néo-paniculidine ?(301, 236))	D-Glucose
Groupe du 22, 26-epimincholestane		
Non identifié (s) (24, 26)	Tomatillidine	?
Solacongestine (269)	Solacongestidine	?
Non identifié (s) (269)	23-Oxosolacongestidine	?
Non identifié (s)(269)	24-Oxosolacongestidine	?

Tableau n° 1 (suite)

Solaflorine (269)	Solafloridine	?
Alcamines à structure mal déterminée		
Non identifié (s) (305)	Pimpinellidine	?
Solangustine (341)	Solangustidine	D-Glucose
Trioside de S. pandaraeforme		
Drège (358)	Non identifié	D-Glucose, D-galactose, L-rhamnose

Tableau n° 1 (fin)

Glucoalcaloïdes des Solanacées +

+ Afin de ne pas grossir démesurément cet exposé, nous n'avons pas précisé la distribution des glucoalcaloïdes dans le règne végétal. Nous renvoyons pour cela à la mise au point de SCHREIBER (1968) (308).

C H A P I T R E I I

IDENTIFICATION ET DOSAGE
DES GLUCOALCALOIDES DES SOLANACEES
ET DE LEURS AGLYCONES

METHODES D'ANALYSE QUALITATIVE

Nous envisageons la détection des glucoalcaloïdes et de leurs aglycones, puis l'identification des glucoalcaloïdes tels quel, qui est complétée, après hydrolyse, par l'identification des alcalamines et des oses libérés.

I - DETECTION DES GLUCOALCALOIDES ET DE LEURS AGLYCONES

Les références bibliographiques que nous avons consultées font état de diverses réactions. Les unes sont dues à la nature alcaloïdique de l'aglycone, les autres à sa nature stéroïdique. Ce seront donc les mêmes réactions qui permettront de détecter l'hétéroside et sa génine.

A - REACTIONS DUES A LA NATURE ALCALOÏDIQUE DE L'AGLYCONE

Les réactifs généraux des alcaloïdes ont été utilisés :

- le réactif de DRAGENDORFF (iodobismuthite de potassium)(98, 68, 326),
- le réactif de BOUCHARDAT et autres réactifs iodo-iodurés (68, 115, 326 ..),
- le réactif de VALSER-MAYER (mercuri-iodure de potassium (360, 188, 326 ..),
- le réactif au tétraphénylborate de sodium (T.P.B.)(360).

Des réactifs donnant des colorations plus ou moins caractéristiques ont également été employées :

- le réactif de FROEDHE (sulfomolybdique) donne une coloration rouge avec les glucoalcaloïdes et leurs aglycones (115, 326),
- le réactif de MANDELIN (sulfovanadique) donne également une coloration rouge virant au bleu violet (115, 336),
- le réactif de MARQUIS (sulfoformolé)(326, 335, 16, ..) adapté par ALBERTI (7), puis PFANKUCH (221), ROOKE (247) et ARNOLD (11) donne une coloration rouge,
- le bleu de bromophénol (B.B.P.)(tétrabromophénolsulfonephtaléine) (96, 97) forme avec les glucoalcaloïdes un composé bleu insoluble dans l'eau; la plupart des autres alcaloïdes donnent une coloration rouge passant au bleu violet.

B - REACTIONS DUES AU NOYAU STEROLIQUE

- Le trichlorure d'antimoine en solution chloroformique (réactif de CAAR et PRICE) ou acétique donne une coloration rouge caractéristique du noyau stérolique (312, 220, 37 ...); la réaction est lente à apparaître à froid avec les dérivés 5 α -saturés, ce qui permet de les différencier des dérivés 5-ènes;
- le trichlorure d'antimoine a également été utilisé en milieu sulfo-phosphorique (334), la coloration bleue étant obtenue,
- le réactif de BACHI ($H_2SO_4-C_2H_5OH$ 1:1) donne une coloration rouge (115, 326),

- l'acide phosphomolybdique donne un précipité bleu (98, 166),
- l'acide silicotungstique donne une coloration rouge (70).

Quant à la réaction de LIEBERMAN, caractéristique du noyau stérolique, elle n'est positive qu'avec la déhydrosolasodine (298).

Le but de notre étude était de pouvoir simplement détecter la présence de glucoalcaloïdes et de leurs aglycones dans les végétaux et leurs extraits et de pouvoir suivre ces principes lors des différentes opérations d'extraction. Pour cela, nous avons couplé deux réactions, la première dévoilant le noyau stérolique (réaction de CAAR et PRICE)(M.O. 1a) la seconde mettant en évidence le caractère alcaloïdique de ces substances (réaction au B.B.P.(M.O. 1b).

Ces réactions étant données par les glucoalcaloïdes et leurs aglycones, elles ne permettent pas de les différencier. Ayant été amenés, au cours de notre travail, à effectuer cette distinction, nous avons procédé à leur séparation en se basant sur la différence de solubilité qu'ils présentent dans certains solvants organiques : les aglycones ont été isolés des hétérosides en les solubilisant dans le chloroforme dans lesquels les glucoalcaloïdes sont insolubles. Les réactions de détection sont alors effectuées sur la solution chloroformique et sur un extrait du résidu dans l'éthanol à 80°C (M.O. 1c).

II - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOÏDES

- L'identification analytique des glucoalcaloïdes fait appel
- à des réactions colorées spécifiques de certains aspects de la structure (double liaison en 5(6)),
 - au fractionnement électrophorétique ou chromatographique par rapport à des témoins,
 - à l'identification de la chaîne sucrée et de l'aglycone après hydrolyse.

WILLUHN (367) et ROZUMEK (250) ont également utilisé la précipitation fractionnée par le cholestérol pour détecter la présence de soladulcidine - tétraoside dans la Douce-amère. Cependant, ce procédé a surtout été employé à des fins préparatives; nous en parlerons plus loin à ce propos.

A - REACTIONS COLOREES SPECIFIQUES DES GLUCOALCALOIDES 5-ENES

Pour les distinguer des glucoalcaloïdes 5 α -saturés, on peut mettre à profit la différence de la vitesse de développement de la coloration donnée par le réactif de CAAR et PRICE. Nous avons cependant donné la préférence à la réaction de CLARKE (77), très utilisée (312, 298, 255, ...), dont la réponse du type tout ou rien est plus adapté à cette recherche. Dans cette méthode, le formol en milieu phosphorique donne une coloration bleue avec les glucoalcaloïdes 3 β -hydroxy-5-ènes, les 5 α -saturés ne donnant pas de coloration. Cette réaction est également positive avec les alcalamines, les saponosides stéroïdiques et les sapogénines qui possèdent cette double liaison; les autres alcaloïdes donnent des colorations différentes (M.O. 2).

B - FRACTIONNEMENT DES GLUCOALCALOIDES PAR ELECTROPHORESE SUR PAPIER

SERAK (317) a utilisé cette méthode combinée à la chromatographie sur papier pour séparer les glucoalcaloïdes dérivés de la solanidine. SABER (253) fractionna par cette technique ceux dérivés de la solasodine.

C - SEPARATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES
PAR CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie s'est naturellement imposée comme méthode de choix pour le fractionnement des glucoalcaloïdes.

La chromatographie sur colonne est peu employée à des fins analytiques et sera étudiée plus loin.

La chromatographie sur papier a joui en ce domaine d'une grande vogue jusqu'en 1965, puis elle fut progressivement abandonnée au profit de la chromatographie en couche mince, plus rapide et aux meilleures performances.

Nous renvoyons pour la chromatographie sur papier, à la mise au point de FAUCHER (97), peu de nouvelles expériences ayant été effectuées depuis.

La chromatographie en couche mince fut introduite pour les glucoalcaloïdes par BOLL (39) et BITE (28) en 1962.

Trois adsorbants et un certain nombre de solvants dont certains sont identiques à ceux utilisés en chromatographie sur papier, ont été proposés. Nous en donnons les principales combinaisons dans le tableau n° II.

Nous avons effectués des essais de séparation des glucoalcaloïdes totaux - à l'époque non encore identifiés - de la Douce-amère, de la Morelle, de la Pomme de terre et de la Tomate; les critères retenus étant le nombre de taches, la séparation de celles-ci et leur forme.

Trois des solvants précités ont été essayés :

- I - Butanol, méthanol, diéthylamine (85 : 5 : 10) sur plaque de silice,
- II - Acétate d'éthyle, pyridine, eau (3 : 1 : 3) sur plaques de silice et d'alumine,

ADSORBANT	SOLVANT	AUTEUR
Gel de silice + gypse	BuOH saturé d'eau	1962 BITE (28)
	BuOH MeOH-Et ₂ NH 85 : 5 : 10	1964 PEREZ MEDINA (220)
	CHCl ₃ -EtOH-NH ₄ OH 1%	1962 BOLL (39)
	20 : 20 : 10	1963 BOLL (41)
		1965 SCHREIBER (302)
		1966 RÖNSCH (243)
		1968 SEELKOPF (316)
	CHCl ₃ -EtOH-NH ₄ OH 20 : 20 : 1	1968 DENOEL (88)
	CHCl ₃ -MeOH 8 : 2	1968 CREANGA (85)
	CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O 50 : 50 : 10	1969 SACHSE (255)
	CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O 65 : 35 : 10	1970 FERENCZY (101)
	Ac.éthyle-pyridine-eau 3 : 1 : 3	1962 BOLL (39)(40)
		1966 RÖNSCH (243)
		1966 ROZUMEK (250)
		1966 WILLUHN (367)
Gel de silice + H ₃ BO ₃ + gypse	Acétone-MeOH-H ₂ O 75 : 15 : 15	1963 SCHREIBER (295)
	Acétone-MeOH-Et ₃ N 10 : 10 : 3	1967 TRUHAUT (334)
Alumine	BuOH saturé d'eau	1965 BOGNAR (37)
	CHCl ₃ -EtOH-NH ₄ OH 1 % 20 : 20 : 10	1962 BOLL (39)
	Ac.éthyle-pyridine-eau 3 : 1 : 3	1967 ISMAILOV (140)
	Ac.éthyle-cyclohexane 1 : 2	1968 WACLAW-ROZKRUTOWA (360)

TADLEAU II

III - Chloroforme, éthanol, ammoniac à 1 % (2 : 2 : 1) sur plaques de silice et d'alumine.

Si le premier solvant ne nous a pas donné de résultats intéressants, les deux autres se sont révélés satisfaisants pour séparer les glucoalcaloïdes de la Tomate, de la Morelle et de la Pomme de terre.

Le remplacement, dans le solvant III, de l'éthanol par du méthanol, soit :

IV - Chloroforme, méthanol, ammoniac à 1 % (2 : 2 : 1),

nous a permis de fractionner sur plaque de silice certains glucoalcaloïdes de la Douce-amère, non ou mal séparés par les solvants II et III.

Ce solvant présente en outre l'intérêt de donner des spots très compacts sous forme de petites bandes minces perpendiculaires à la direction de migration, ce qui permet une haute résolution (M.O. 4a).

Les révélateurs utilisés sont souvent de même nature que les réactifs de détection :

- le réactif de DRAGENDORFF (98, 334, 39, 85, 40 ...),
- des réactifs iodo-iodurés (294, 245, 300, 306, 2, 304 ...),
- un réactif au bromure de potassium (245),
- le trichlorure d'antimoine (98, 220, 39, 28, 40, 75 ...).

Certains n'ont été employés qu'en chromatographie en couche mince :

- l'acide sulfurique à 10 % (98, 295, 149 ...),
- l'iode à saturation dans l'hexane (126, 294, 1, 216 ...), réactif peu spécifique, mais qui présente l'intérêt de s'évaporer en laissant intact les glucoalcaloïdes,

- le sulfate de cérium (IV) en milieu sulfurique (243, 294, 245, 244),
- la vanilline en milieu phosphorique (367), qui donne une coloration rouge violet avec les alcanines stéroïdiques et les autres stérols, et une coloration jaune avec les sapogénines stéroïdiques,
- le p. anisaldehyde en milieu sulfurique (98, 367, 250, 369, 251 ...) qui donne des colorations différentielles entre les alcaloïdes stéroïdiques 5-ènes, les 5 α -saturés, les sapogénines stéroïdiques et les autres stérols.

Nous avons utilisé le réactif de DRAGENDORFF, qui révèle tous les alcaloïdes, le réactif de CAAR et PRICE, qui révèle le noyau stérol - ces deux réactifs utilisés différemment permettent de déceler les stéroïdes alcaloïdiques - et le p. anisaldehyde en milieu sulfurique (M.O. 4a).

Les résultats que nous avons obtenus sont rassemblés dans la figure n° 32 qui reproduit un exemple de séparation des glucoalcaloïdes de la Pomme de terre, de la Tomate, de la Morelle et de la Douce-amère, et dans le tableau n° III qui donne les Rf des principaux glucoalcaloïdes.

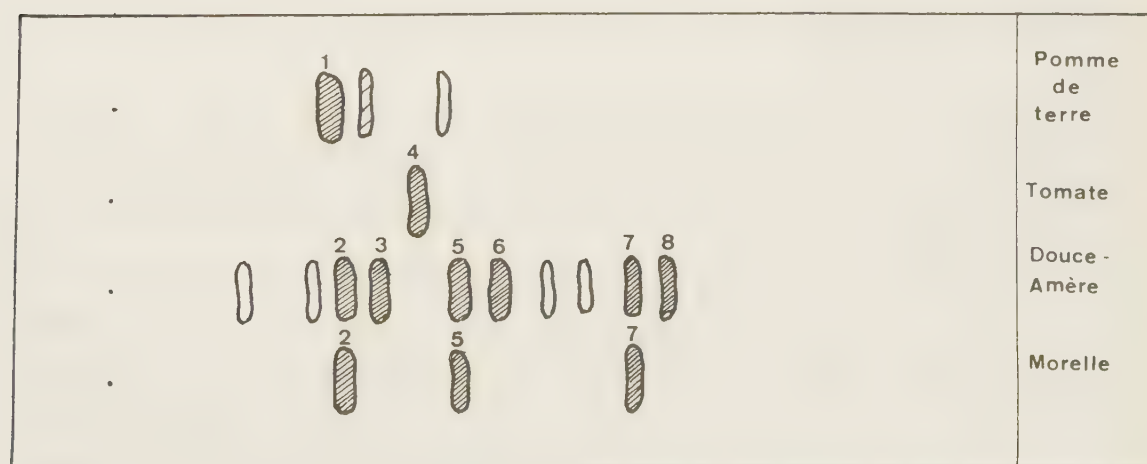


Figure n° 32

N°	Rf			Identification
	$\bar{x}$	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	$\sigma_m \ t$	
1°	0,24	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,02	Solanine
2°	0,26	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,02	Solasonine
3°	0,30	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,01	α -Solamarine
4°	0,34	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,03	Tomatine
5°	0,38	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,03	Solamargine
6°	0,43	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,02	β -Solamarine
7°	0,57	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,02	β -Solamargine
8°	0,61	$\begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix}$	0,03	γ -Solamarine

TABLEAU III

Les Rf ayant des valeurs très proches, leur utilisation pour l'identification des glucoalcaloïdes est très délicate; pour cette raison, nous avons toujours effectués les chromatographies en présence de témoins.

Variations des Rf en fonction de la longueur de la chaîne sucrée

La migration d'une substance en chromatographie d'adsorption dépend en grande partie de sa polarité. La mobilité des glucoalcaloïdes comme celle de tous les hétérosides sera donc essentiellement fonction du nombre de ses groupements hydroxylés libres, c'est-à-dire de la longueur et de la nature de la chaîne osidique. On remarque ainsi que la solanine, la solasonine et l' α -solamarine qui possèdent la même chaîne sucrée (trois oses, neuf hydroxyles) ont des Rf variant de 0,24 à 0,30 dans le solvant précité; pour l' α -solamargine et la β -solamarine (trois oses, huit hydroxyles), les Rf sont respectivement de 0,38 et 0,43; la β -solamargine et la γ -solamarine (deux oses, six hydroxyles) possèdent des Rf de 0,57 et 0,61; les aglycones, dont la perte de la chaîne osidique libère l'hydroxyle en C-3, ont des Rf voisins de 0,90. La distance

de migration en C.C.M. semble donc pouvoir fournir une orientation sur le nombre d'oses qui entrent dans une molécule de glucoalcaloïdes.

Cette supposition doit être cependant considérée avec réserves, d'autres facteurs pouvant intervenir. Ainsi :

- la tomatine avec quatre oses et onze hydroxyles libres possède un Rf de 0,34, ce qui laisse supposer que l'agencement des oses à une grande importance;
- la polarité de la génine intervient également et il peut exister des différences de comportement entre les diverses catégories d'alcamines étudiées précédemment. En ce qui concerne les dérivés les plus courants de la solanidanine et de la tomatanine, ils semblent se comporter semblablement. Il faut toutefois tenir compte que certains dérivés de la tomatanine peuvent posséder un hydroxyle supplémentaire en C-15 en position α ou β , qui peut influencer sur leur mobilité.

La valeur du Rf ne présente donc d'intérêt que pour comparer un glucoalcaloïde avec ses produits d'hydrolyse partielle ou pour évaluer, avec réserves, le nombre approximatif de molécules d'oses liées à un aglycone connu.

Une identification analytique nécessite la concordance d'un certain nombre de résultats; la recherche d'une double liaison en 5(6) et la comparaison du comportement chromatographique par rapport à un témoin donnent une orientation. Cette orientation peut être complétée par la caractérisation de l'aglycone et de la chaîne sucrée après hydrolyse.

III - HYDROLYSE DES GLUCOALCALOÏDES

Les conditions opératoires de l'hydrolyse des glucoalcaloïdes rencontrées dans la bibliographie sont extrêmement diverses; les princi-

pales d'entre elles sont résumées dans le tableau IV.

De ces diverses expériences, il ressort que la principale difficulté réside en l'obtention d'un rendement d'hydrolyse le plus élevé possible pour un minimum de dégradation de l'aglycone, celle-ci correspondant principalement à une déshydratation. Par exemple, la solasodine ((22 R, 25 R)-tomat-5-énin-3 β -ol), se déshydrate en milieu acide en solasodiène ((22 R, 25 R)-tomata-3,5-diène) (figure n° 33). De même, le tomatidénol donne le tomatidiène et la solanidine, le solan-
thène.

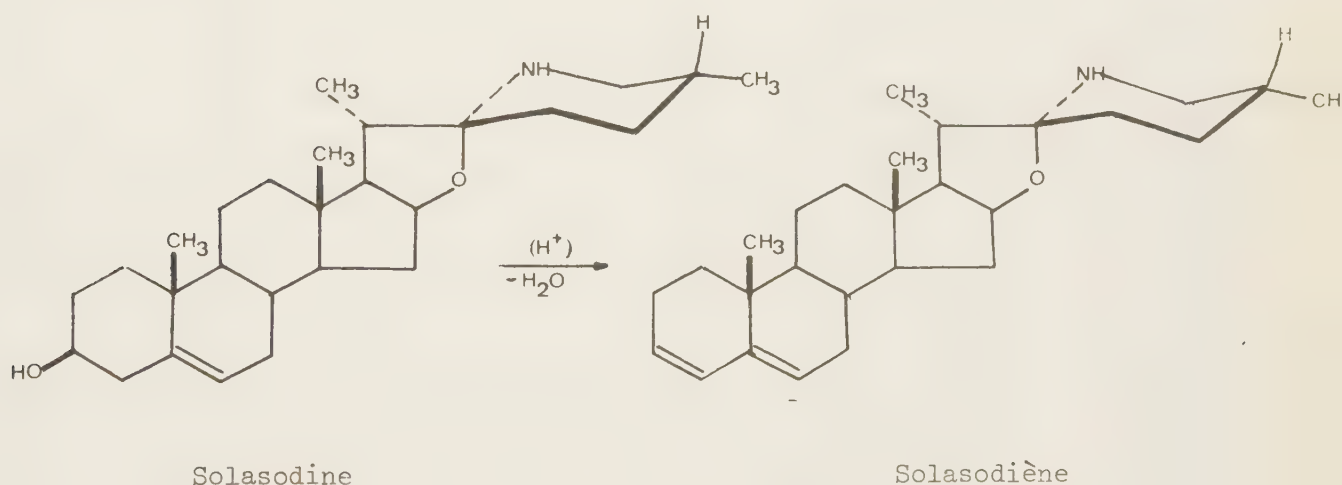


Figure n° 33

LABENSKI (174, 175, 176) et CIONGA (75) ont spécialement étudié l'hydrolyse des glucoalcaloïdes de façon à en préciser les conditions optimales. Leurs travaux ont surtout porté sur les dérivés de la solasodine.

L'influence de certaines conditions opératoires peut être précisée :

- Solvant et concentration en glucoalcaloïdes :

- l'augmentation du degré alcoolique diminue la formation du solasodiène (75, 174);
- l'augmentation de la concentration en glucoalcaloïdes produit le même effet en présence d'acide chlorhydrique, mais n'a aucune influence en présence d'acide sulfurique (174); elle

SOLVANT	CONCENTRATION		DUREE (heures)	REFERENCE	
	HCl g/100 ml	H ₂ SO ₄ en g/100 ml			
Eau	3,6		2	1955 KUHN	(165)
	3,6		1	1950 MA	(187)
	5		3	1969 BIRNER	(27)
	7,2			1960 BIANCHI	(25)
		3	2	1963 SCHREIBER	(290)
Méthanol	50 ^c	2	1	1958 TAYLOR	(325)
	33 ^c	3,6	4	1960 SYHORA	(327)
	50 ^c	3,6	4	1961 SANDER	(262)
	50 ^c	3,6	4	1968 SLELKOPF	(316)
	90 ^c	5	3	1961 LABENSKI	(174)
	90 ^c	5	3	1967 CIONGA	(75)
Ethanol	53 ^c	2	3	1956 BOGNAR	(33)
	22 ^c	2,8	3	1965 BOGNAR	(37)
	92 ^c	3,3	3	1968 CREANGA	(85)
	50 ^c	3,6	3	1963 SCHREIBER	(283)
	90 ^c	3,6	3	1965 SCHREIBER	(302)
	85 ^c	3,6	3	1966 RONSCH	(243)
	50 ^c	5,0	3	1962 ROMOVA	(331)
	86 ^c	5,0	3	1961 LABENSKI	(174)
	83 ^c	7,0	4	1968 MAITI	(188)
		7,2	3	1960 BIANCHI	(24)
	99 ^c		2	1968 BITE	(29)
Isopropanol	30 ^c	5,0	3	1961 LABENSKI	(174)
	50 ^c	5,0	3		
	90 ^c	5,0	3		
	50 ^c	10,0	3		
	90 ^c		4	1965 LABENSKI	(175)
		7			
	50 ^c	7	4		
		10	8		
		15		1965 LABENSKI	(176)
	50 ^c	5,0	3		

TABLEAU IV

Les auteurs cités dans ce tableau ont généralement utilisé la température d'ébullition.

accroît par ailleurs le rendement en solasodine (212);

- . la meilleure concentration en glucoalcaloïdes serait de 1,85 à 3,50 % lorsqu'on utilise le méthanol à 90 % en présence d'acide chlorhydrique à 5 % (75).

- Nature de l'acide, sa concentration :

- . l'acide chlorhydrique serait plus apte à déshydrater la solasodine que l'acide sulfurique (174);
- . LABENSKI (174) constate que l'augmentation de la concentration en acide favorise la formation du solasodiène, mais CIONGA (75) prétend que celle-ci n'intervient pas;
- . le rendement de l'hydrolyse augmente avec la concentration en acide, ceci jusqu'à 5 % surtout si on est en présence de solamargine, peu hydrolysée jusqu'à une concentration de l'ordre de 3 %.

- Température et durée :

- . l'augmentation de la température favorise la déshydratation (174);
- . le rendement d'hydrolyse augmente durant les trois premières heures (75);
- . le temps d'hydrolyse n'influe pas sur la formation du solasodiène qui se forme durant la première heure (75); une substance non identifiée apparaît après deux heures (75).

Purification de la solution hydrolysée :

L'hydrolysate qui s'est coloré en jaune, est parfois purifié à ce stade par une ébullition en présence de charbon activé (37).

Récupération de l'aglycone :

L'aglycone qui se trouve sous forme de sel (chlorhydrate, sulfate) peut être isolé :

- il précipite par refroidissement si le degré alcoolique est suffisamment bas, ou si l'on se trouve en solution aqueuse (165, 25, 52, 322, 33, 288);
- si le degré alcoolique est trop élevé, il est possible d'effectuer une concentration au demi et de ramener au volume initial avec de l'eau distillée; la précipitation est pratiquement complète (75);
- la solution peut être évaporée (243, 175).

Le sel d'alcamine peut être à ce stade purifié

- par cristallisation dans l'alcool à 80^c (52),
- par lavages à l'acétone (37, 288, 322, 55), à l'eau (290, 55), à l'éthanol à 50^c (288), à l'éther (288), au dichloroéthane (322).

La base est alors régénérée :

- soit la liqueur d'hydrolyse est directement traitée par la soude à chaud (323),
- soit le chlorhydrate est mis en suspension dans l'ammoniaque (52, 325),
- soit le sel est redissout par élévation du degré alcoolique (165, 290, 33), puis précipité par alcalinisation par l'ammoniaque (33, 165, 316, 175, 322, 290, 94) ou extrait par un solvant organique (benzène (323), chloroforme (360, 29)) après alcalinisation et récupéré par évaporation.

Récupération des sucres :

Ils se trouvent en solution dans la liqueur-mère d'hydrolyse.

Si le solvant d'hydrolyse est de nature alcoolique, ils se transforment partiellement en méthyl-hétérosides ou en éthyl-hétérosides (figure n° 34). Cette transformation est susceptible de gêner les identifications ultérieures.

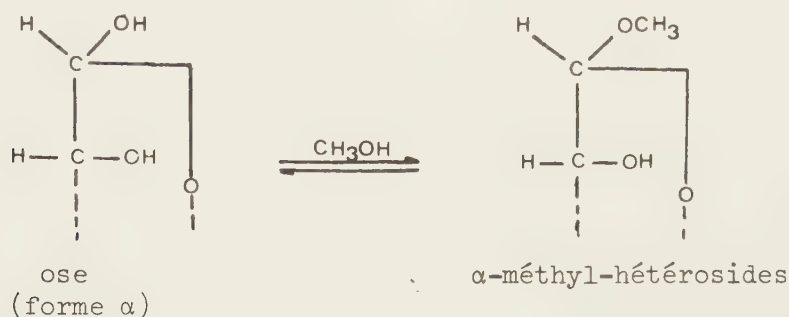


Figure n° 34

Dans le cas d'une analyse chromatographique ultérieure, la solution sucrée doit être neutralisée; cette neutralisation peut être effectuée :

- par précipitation d'un sel de l'acide et filtration :

- . précipitation des sulfates par la baryte ou le carbonate de baryum (290),
- . précipitation des chlorures par le carbonate d'argent (316, 52);

- par utilisation des échangeurs d'anions comme l'Amberlite IR4B (39, 165, 25), ou l'Amberlite IR2B (187).

CHOIX D'UNE METHODE

Lors d'essais effectués sur différents glucoalcaloïdes, nous avons remarqué que, pour des conditions opératoires ne différant que par la nature du solvant, aqueux ou alcoolique, l'hydrolyse est plus complète dans ce dernier milieu, mais que les sucres se transforment alors partiellement en hétérosides, ce qui perturbe leur identification. Pour résoudre cette difficulté, nous avons essayé comme le conseille BRUNEL (64) d'hydrolyser dans un deuxième temps la combinaison sucrée après

avoir chassé le solvant initial. Nous n'avons pu, cependant, éliminer totalement ces hétérosides par ce procédé par ailleurs long et générateur de pertes. D'autre part, l'élévation de température permet, en milieu aqueux, d'augmenter le rendement d'hydrolyse, mais il se produit parallèlement une augmentation de la dégradation de l'aglycone. Aussi, nous avons retenu deux modes opératoires selon que l'on s'intéresse simplement à l'alcamine ou à l'aglycone et aux sucres.

Dans le premier cas, nous avons effectué l'hydrolyse par l'acide chlorhydrique à 5 % dans du méthanol pendant trois heures à 60° C (M.O. 5 a); en effet, contrairement à l'opinion de LABENSKI (174), cet acide ne nous a pas semblé provoquer une plus grande destruction des aglycones que l'acide sulfurique.

Dans le second cas, nous avons utilisé l'acide chlorhydrique à 5 % dans l'eau distillée à 90° C pendant trois heures (M.O. 5 b). Cette méthode détruit cependant une plus grande partie de l'alcamine, ce qui réduit, lors de l'analyse de traces, les possibilités d'identification ultérieures.

Lorsque les glucoalcaloïdes se trouvent en mélange, il est nécessaire de les fractionner avant de les hydrolyser, afin de pouvoir rapporter à chacun d'entre eux les sucres qui entrent dans leur composition. Nous avons alors effectué ce fractionnement par chromatographie en couche mince et élué chaque hétéroside avant de l'hydrolyser (M.O. 4b).

IV - IDENTIFICATION DES AGLYCONES

Les procédés utilisés pour l'identification analytique des aglycones sont de même nature que ceux employés pour les glucoalcaloïdes : réactions permettant de mettre en évidence certaines particularités de structure, procédés chromatographiques permettant de les fractionner.

A - REACTIONS CARACTERISTIQUES

. des aglycones 5-ènes :

La réaction de CLARKE décrite à propos de glucoalcaloïdes 5-ènes leur est également applicable.

. des dérivés 3, 5-diènes :

Ils résultent de la déshydratation des aglycones 5-ènes lors de l'hydrolyse; ils peuvent être mis en évidence par la coloration mauve qu'ils donnent en présence d'acide trichloracétique (réaction de ROSENHEIM) (234, 239, 205, 39).

. des aglycones 3 β -hydroxylés :

Ils forment un complexe équimoléculaire insoluble avec le digitonoside (39, 239, 22, 240, 169). Toutes les 3-hydroxyalcamines rencontrées à l'état naturel sont sous la forme 3 β et donnent cette réaction.

B - SEPARATION ET IDENTIFICATION DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE

Avant 1962, les aglycones étudiés provenant le plus souvent de l'hydrolyse d'un seul glucoalcaloïde, ou bien les différents glucoalcaloïdes des plantes étudiées possédant ou étant supposés posséder le même aglycone, le problème du fractionnement ne se posait pas. C'est ainsi qu'en 1958 (234), la "soladulcamaridine" était considérée comme un aglycone dérivé de la solalidanine, résultant de l'hydrolyse de la soladulcamarine rencontrée dans la Douce-amère. Plus tard, la chromatographie en couche mince permettra (39) de la fractionner en tomatidénol accompagné de solasodine et de tomatidiène.

Le fractionnement analytique des aglycones peut être effectué par chromatographie sur papier, par chromatographie en couche mince et par chromatographie gazeuse.

1 - La chromatographie sur papier

Seul TUZSON (339) a étudié cette technique. Par chromatographie de partage sur papier imprégné de formamide et d'acétone (3 : 7) et à l'aide d'un solvant constitué de benzène et d'acétone (3 : 7) saturé de formamide, il a séparé les dérivés de la solanidanine de ceux de la (22 R, 25 R)-tomatanine, de ceux de la (22 S, 25 S)-tomatanine, des diènes. A l'aide du solvant : toluène, acide acétique, butanol, eau (30 : 5 : 0,5 : 10), il sépara deux dérivés du premier groupe, la solanidine et la démissidine. Les autres aglycones n'ont pu être fractionnés.

2 - La chromatographie en couche mince

Les premières tentatives de séparation des alcalamines stéroïdiques ont pratiquement coïncidé avec l'avènement de la chromatographie en couche mince, ce qui explique le grand nombre de modes opératoires proposés pour cette technique. Ils sont résumés dans le Tableau n° V.

Parmi ces modes opératoires, seuls ceux qui utilisent un adsorbant imprégné de nitrate d'argent et ceux dont le solvant contient du brome ont permis de fractionner les dérivés 5-ènes de ceux 5 α -saturés.

La méthode consistant à imprégner l'adsorbant de nitrate d'argent a déjà été utilisée depuis longtemps pour fractionner des composés dont la plus grande différence résidait en leur plus ou moins grande insaturation (acide gras, terpènes, ...). On explique les résultats obtenus par la complexation de l'ion Ag avec les élections π des doubles liaisons, cette complexation ralentissant la migration des dérivés les plus insaturés.

Elle fut employée pour la première fois par SCHREIBER (294) qui put séparer la solanidine de la démissidine. Elle permet actuellement

ADSORBANT	SOLVANT	PARTICULARITES	REFERENCE
Silicagel + gypse	CHCl ₃ -CH ₃ OH 19:1		1962 BOLL (40)
	" " 22:1,5		1969 FAYEZ (98)
	" " 9:1		1968 CREANGA (85)
	" " 6:4		1968 SEELKOPF (22)
	" " 6:4		1963 SCHREIBER (294)
	CH ₂ Cl ₂ -CH ₃ OH 2:1		1966 SCHREIBER (306)
	C ₆ H ₆ -CH ₃ OH 5:1		1969 FAYEZ (98)
	Ac O Et-cyclohexane 35:65		1965 SCHREIBER (304)
	" " 1:1		1963 SCHREIBER (294)
	Ac O Et-n hexane-C ₆ H ₅ OH 5:10:2	+ I goutte de brome pour 10 ml de solvant	1969 FAYEZ (98)
	AcOEt-pyridine-eau 5:1:4		1967 CIONGA (75)
	Et ₂ O-isopropanol 9:1		1966 SCHREIBER (244)
Silicagel + 12% acétate de sodium	C ₆ H ₆ -CH ₃ OH 10:1	+ I goutte de brome pour 10 ml de solvant	1969 FAYEZ (98)
	AcOEt-cyclohexane 3:1	"	1969 FAYEZ (98)
	AcOEt-n hexane 1:2	"	1969 FAYEZ (98)
Silicagel + gypse + 1,4 % H ₃ BO ₃	CH ₃ OH-acétone-triéthanolamine 1:1:0,3		1967 TRUHAUT (334)
Silicagel + gypse + 15% AgNO ₃ + 10% AgNO ₃ + 6,3% AgNO ₃ +gradient AgNO ₃	CHCl ₃ -CH ₃ OH 9:1	développement à fond perdu	1966 RÖNSCH (244)
	CHCl ₃ -CH ₃ OH 95:5		1967 RÖNSCH (245)
	AcOEt-cyclohexane-H ₂ O 5:4:1		1963 SCHREIBER (294)
	CH ₂ Cl ₂ -CH ₃ OH 95:5	développement à fond perdu (chambre BN)	1968 ROZUMEK (251)
	" " "		1968 ROZUMEK (251)
	" " "		1968 ROZUMEK (251)
Alumine + gypse	CHCl ₃		1962 BITE (28)
	CHCl ₃ -acétone 3:1		1967 ISMAILOV (140)
	Benzène-CH ₃ OH 10:1		1966 SCHREIBER (306)
	AcOEt-cyclohexane 1:1		1963 SCHREIBER (294)
	n-Hexane-triéthylamine 15:1		1963 SCHREIBER (294)
Alumine + gypse + 10% AgNO ₃	CHCl ₃ -CH ₃ OH 95:5	développement à fond perdu	1967 RÖNSCH (245)

TABLEAU V

de fractionner les alcanamines ne différant que par la double liaison en 5(6) lorsque la technique à fond perdu est utilisée (245, 251) ou bien lorsque le nitrate d'argent est employé en gradient décroissant le long de la plaque (251). L'essai que nous avons effectué sur plaque finie MERCK de silicagel imprégnée uniformément par immersion dans une solution méthanolique à 10 % de nitrate d'argent durant 10 secondes et en utilisant un solvant composé de chloroforme et de méthanol (9 : 1), ne nous a pas permis cette séparation.

FAYEZ (98), en 1969, proposa d'exalter la différence existant entre ces composés en bromant la double liaison. Par cette méthode, il fractionna ces composés 5-ènes/5 α (H) sur silicagel, le plus souvent imprégné d'acétate de sodium. Nous avons essayé trois des techniques proposées par cet auteur, à savoir :

- le n hexane-acétate d'éthyle-éthanol (5 : 10 : 2) additionné de 1 goutte de brome pour 10 ml de solvant, sur gel de silice G MERCK,
- le n hexane-acétate d'éthyle (10 : 5) additionné d'une quantité équivalente de brome, sur gel de silice G MERCK contenant 12 % d'acétate de sodium,
- le benzène-méthanol (10 : 1) additionné également de brome et sur une plaque identique.

Pour aucune de ces combinaisons, nous n'avons observé la séparation des alcanamines 5-ènes de celles 5 α -saturées.

N'étant pas équipés pour réaliser de la chromatographie en couche mince à fond perdu, ni pour préparer des plaques à gradient de concentration en nitrate d'argent, nous avons retenu :

- le chloroforme - méthanol 9 : 1, sur gel de silice MERCK (M.O. 6)

qui nous a semblé meilleur que :

- l'acétate d'éthyle - cyclohexane 105 : 45 sur le même adsorbant, également essayé.

Les Rf obtenus par cette méthode sont rassemblés dans le tableau n° VI et le schéma d'une chromatographie de la démissidine (Dd) et d'aglycones de la Pomme de terre (P), de la Douce-amère (DA), de la Morelle (M) et de la Tomate (T) est représenté sur la figure n° 35.

	Rf			ALCAMINE
	$\bar{x}$	$\pm \sigma_m$	$\pm t$	
1	0,46	$\pm$	0,01	Solanidine
2	0,51	$\pm$	0,02	Solasodine
3	0,53	$\pm$	0,01	Démissidine
4	0,62	$\pm$	0,01	Solanthrène
5	0,67	$\pm$	0,02	Tomatidénol et
5'				Tomatidine
6	0,71	$\pm$	0,02	Solasodiène
7	0,80	$\pm$	0,01	Tomatidiène

TABLEAU VI

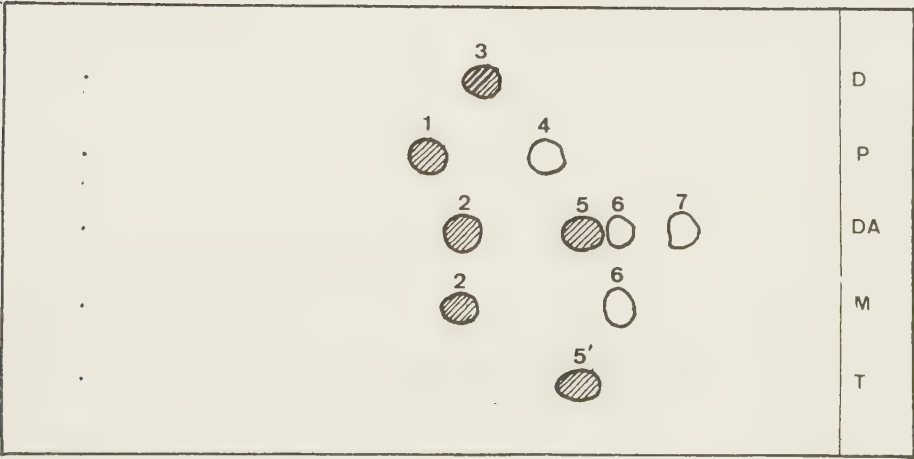


Figure n° 35

3 - La chromatographie gazeuse

La chromatographie gazeuse des alcalamines stéroïdiques, des Solanacées n'a été tentée que par VAN DEN HEUVEL (350) en 1961, qui étudia le comportement sur SE 30 de la tomatidine, de la solasodine, de la soladulcidine, de la démissidine et de différents isomères et dérivés d'oxydation et de réduction.

Ce peu de données bibliographiques est facilement expliqué par le fait que ces substances ne se prêtent pas aisément, de par leur nature, à ce mode de séparation. Ce sont en effet des composés à poids moléculaire élevé (voisin de 400), qui possèdent au minimum deux groupements polaires (un azoté et un autre hydroxylé), qui correspondent le plus souvent à des stéréoisomères ou qui ne diffèrent que par leur insaturation, et qui de plus sont fragiles, leur température de volatilisation étant très peu différente de leur température de destruction.

Ces mêmes difficultés ont été rencontrées chez les stéroïdes hydroxylés et les autres alcaloïdes. Les études y ayant trait montrent que l'analyse par chromatographie gazeuse reste possible à la condition de déterminer soigneusement l'appareillage, le support solide, la phase stationnaire et d'effectuer éventuellement une transformation de la substance à analyser. Nous allons envisager successivement ces différents aspects.

a) Appareillage

Nous nous intéresserons à la nature de la colonne, à la chambre d'injection et au détecteur.

. La nature de la colonne

Les colonnes en verre sont très utilisées pour les alcaloïdes (59) et pour les stéroïdes (114, 119, 226, 196, 72 ...), les aciers ordinaires habituels pouvant provoquer une décomposition catalytique (12, 199).

Cependant, la stabilité est considérablement augmentée par la formation de dérivés (199) et des auteurs se contentent alors d'employer certains aciers inertes chimiquement (346) qui ne donnent aucune différence avec le verre (139).

Nous noterons, ici, que, paradoxalement, la laine de verre utilisée pour boucher les extrémités des colonnes est parfois accusée de favoriser les décompositions catalytiques (59).

Les colonnes capillaires ne sont que rarement employées (48).

Pour nos essais, nous avons utilisé des colonnes en acier inoxydable spécialement inerte ("Inox Super" AEROGRAPH) ; nous n'avons observé aucune décomposition des alcalamines chromatographiées, qu'elles soient libres ou transformées en dérivés.

. La chambre d'injection

La nature de la chambre d'injection semble importante, car les phénomènes de décomposition interviendraient surtout lors de la transformation de la phase liquide en phase gazeuse (377) : Nous y avons placé pour prévenir ces décompositions, un tube en pyrex ($\emptyset$: 1/8 inch). Cette introduction présente en outre l'avantage de réduire l'important volume mort de l'injecteur de notre appareil.

. Le détecteur

Les détecteurs à conductivité thermique sont peu employés pour les stéroïdes, car ils ne sont pas suffisamment sensibles envers les quantités habituellement injectées, de l'ordre du submicrogramme.

Les détecteurs à ionisation à argon ont été utilisés aussi bien pour les alcaloïdes (59) que pour les stéroïdes (350, 226, 351).

Les plus employés sont les détecteurs à ionisation de flamme (119, 346, 371, 71, 109, ...).

Pour l'analyse de traces, de l'ordre du nanogramme et en dessous, le détecteur à capture d'électrons est préféré. Les stéroïdes sont alors transformés en dérivés halogénés (226) de façon à augmenter le coefficient de réponse; par exemple, ils sont chromatographiés sous forme de chloroacétates (63), d'heptafluorobutyrate (226, 76, 356, 357, 208 ...), d'halogénométhyltriméthylsilylates (110).

Nous avons utilisé le détecteur à ionisation de flamme.

b) Support solide

La qualité du support principalement requise est l'inertie : inertie chimique et absence de phénomènes d'adsorption envers les substances chromatographiées.

La plupart des supports utilisés pour la chromatographie des stéroïdes et des alcaloïdes sont préparés à partir de squelettes de Diatomées, le type blanc étant préféré au type rose, plus adsorbant (210). Ainsi, ont été utilisés le Gas Chrom P (350, 59, 114, 351, 371 ...), le Gas Chrom Q (346, 371), le Gas Chrom Z (109), le Gas Chrom S (211), le Chromosorb W (350, 186, 249, ...), le Chromosorb G (84), l'Anakrom ABS (119, 120, 29), etc ...

Ces supports ont été le plus souvent lavés aux acides de manière à éliminer un certain nombre d'impuretés - tel le fer - capables de provoquer catalytiquement certaines transformations (199, 139, 186, 60).

Pour éliminer les effets d'adsorption dus en grande partie aux groupes hydroxylés des composés siliceux, les supports sont souvent silanisés par du diméthylchlorosilane (DMCS) (72, 139, 371, 186 ...) ou de l'hexaméthylidisilazane (HMDS) (60); ils ont été également recouverts de polyvinylpyrrolidone (PVP) (354, 153, 353).

Dans tous nos essais, le support solide a été du VARAPORT 30 (= AEROPAK 30) 80/100, qui correspond à un chromosorb W, lavé aux acides, neutralisé et traité au DMCS.

c) Phase stationnaire

Le choix de la phase stationnaire est fondamental pour la séparation des alcaloïdes et des stéroïdes.

Il est tout d'abord indispensable que la phase puisse supporter les fortes températures exigées par la faible volatilité de ces composés, faible volatilité principalement due à leur poids moléculaire élevé. La température d'utilisation doit être dans les meilleurs cas au moins égale à 190° C, en tenant compte que l'on utilise le plus souvent un détecteur à ionisation, donc de grande sensibilité. Cette condition limite déjà énormément l'éventail possible de phases stationnaires.

Il faut également considérer que ces substances doivent être chromatographiées à la plus faible température possible de façon à s'écarter au maximum de la température de destruction; il est cependant nécessaire qu'elle soit suffisante pour que les pics ne soient pas trop étalés et qu'ils sortent suffisamment rapidement. Pour satisfaire ces deux aspects, de faibles imprégnations des supports en phase stationnaire (1 à 3 %) sont utilisés (348), ce qui nécessite des quantités injectées extrêmement faibles, et l'utilisation des phases non polaires semble préférable. Par contre, cette dernière solution ne peut être toujours retenue, la séparation de substances très peu différentes nécessitant des phases exerçant de fortes interactions sur celles-ci (74), c'est-à-dire des phases très polaires.

L'expérimentateur se trouve donc souvent devant un choix extrêmement restreint et ne présentant pas de solution entièrement satisfaisante.

Parmi les phases qui ont été utilisées pour séparer les stéroïdes aussi bien que les alcaloïdes, on peut en retenir un certain nombre :

- les silicones méthylées, non polaires, très thermostables, mais peu sélectives envers les groupements fonctionnels caractéristiques; la plus utilisée est la phase SE 30 (59, 350, 351, 151, ...); il faut également citer les phases JXR (194), OV 1 (197, 372), OV 101 (119);

- les silicones phénylméthylées, polaires, plus sélectives, tels OV 17 (196, 372) et SE 52 (313, 143, 194, ...) qui serait sensible à l'insaturation des substances;

- les polyesters, polaires très utilisés, tel le succinate de néopentylglycol (NGS) (92, 201, ...), l'adipate de néopentylglycol (NGA) (84, 327, ...), le succinate de cyclohexanediméthanol (CHMDS), l'adipate de triméthylcyclobutanediol (TMCBA) (226), etc ...; ils sont réputés sélectifs pour les composés insaturés et les groupements fonctionnels polaires hydroxylés et cétoniques (199, 139);

- la silicone cyanoéthylméthylée XE 60 (ou CN si); elle possède des propriétés similaires et est très employée (114, 109, 352, 61, ...);

- la silicone fluorée QF 1 (ou FS 1265) également polaire; elle possède une sélectivité vis à vis des fonctions hydroxylées et cétoniques et est très sensible aux différences stériques (199, 139).

Nous avons testé deux silicones méthylées, SE 30 et OV 1, une silicone phénylméthylée SE 52, une silicone cyanoéthylméthylée XE 60, et une silicone fluorée QF 1; le taux d'imprégnation du support a toujours été de 2 %.

d) Transformation en dérivés

La transformation en dérivés des stéroïdes et des autres substances polaires de poids moléculaire élevé facilite souvent leur analyse par chromatographie gazeuse :

. Ainsi, la dérivation augmente en général la stabilité thermique de ces composés, ce qui permet de choisir dans une gamme plus large de température et même de chromatographier des substances qui ne pourraient l'être sans destruction (139).

. Souvent, le dérivé formé possède également une volatilité augmentée (355); c'est en particulier le cas des trifluoroacétates (349).

. La dérivation s'effectuant le plus souvent sur le groupement polaire de la molécule, elle diminue la polarité de celle-ci, ce qui élargit l'éventail des phases utilisables; il s'en suit également une diminution de la perte de la substance par adsorption sur le support (272), ce qui augmente la réponse du détecteur pour une même quantité injectée. Cette réponse est également accentuée du fait de l'élévation du poids moléculaire de la substance chromatographiée.

. La dérivation permet également dans certains cas d'accroître les différences stériques existant entre certains composés; c'est ainsi par exemple que le cholestanol et l'épicholestanol, non séparés sur JXR, le sont très facilement après transformation en éthers triméthylsilylés (139).

Les principaux dérivés fréquemment préparés portent sur un certain nombre de fonctions, hydroxyle, carbonyle, carboxyle, amine ou imine.

Les fonctions alcools et amines étant seules présentes dans les alcalamines stéroïdiques des Solanacées, nous n'avons envisagé que leur transformation dans ce qui suit.

En ce qui concerne les fonctions hydroxyles, l'acétylation (Ac), (271, 197, 109, 327, ...), l'halogénoacétylation : trifluoroacétylation (TFA) (182, 62, 273) ou chlorodifluoroacétylation (CDFA) (226), la triméthylsilylation (TMS) (193, 103, 59, 142, 346, 371, 196, ...), la chlorométhyl diméthylsilylation (CMDMS) (226, 110), l'heptafluorobutylation (HFBu) (226, 357), sont les plus couramment utilisées. La facilité de transformation est essentiellement fonction du nombre de groupements hydroxyles, de leur position et des conditions de dérivation (catalyseurs, température, etc ...).

Les fonctions amines sont généralement plus difficilement transformées, les réactions étant moins complètes, ce qui entraîne la présence de plusieurs pics sur le chromatogramme. Pour cette raison, les alcaloïdes possédant une fonction amine tertiaire, donc non substituable, ont été les seuls à être chromatographiés sous forme de dérivés; c'est

le cas de la morphine (59, 8, 103, 193, 271, 182, ...), de la codéine (8, 193, 271, 182), de la cocaïne (103). Certaines alcalamines qui nous intéressent possédant une fonction amine secondaire, nous nous sommes reportés aux données bibliographiques sur la dérivation des fonctions azotées des acides aminés.

Les méthodes de dérivation quantitative de ces principes employées avec succès semblent résulter de deux types de transformation :

- la formation d'éthers N-TMS des esters TMS (113), en utilisant le bis (triméthylsilyl) trifluoroacétamide (BSTFA) comme agent silylant, dans des conditions opératoires très définies,
- la formation de N-TFA (177, 112, 116, 364) des esters méthyliques, amyliques ou butyliques.

Lors de nos essais, nous avons préparés des dérivés acétylés et des dérivés triméthylsilylés.

La préparation des dérivés acétylés a été effectuée suivant le mode opératoire M.O. 7a.

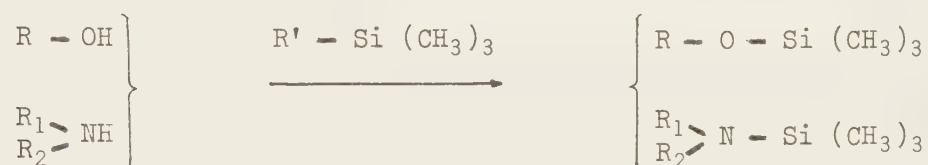
Les premiers essais ont été réalisés à partir de la solasodine sur SE 30. Nous avons constaté :

- que la transformation était incomplète : on pouvait observer deux pics principaux correspondant probablement à de la solasodine monoacétylée et diacétylée;
- que le temps de rétention était très augmenté par rapport à la solasodine non transformée, ce qui provoquait un aplatissement des pics.

Pour remédier à ce dernier point, il aurait été préférable de préparer des trifluoroacétates plus volatils. Cette possibilité n'a pas été essayée, l'acide fluorhydrique qui se serait dégagé au niveau du détecteur risquant d'attaquer le brûleur en quartz de celui-ci.

Nous n'avons pas retenu par la suite cette transformation en dérivés acétylés.

La préparation des dérivés triméthylsilylés n'a porté, en ce qui nous concerne, que sur les fonctions hydroxyles et amines; elles sont transformées en éthers ou en amines tertiaires triméthylsilylés :



Un certain nombre de réactifs ont été utilisés dans ce but; ils diffèrent :

- par la nature du réactif silylant, dont les plus employés sont par ordre de réactivité croissante :

la triméthylsilyldiméthylamine (TMSDMA),
l'hexaméthylidisilazane (HMDS),
le bistriméthylsilylacétamide (BSA),
le bistriméthylsilyltrifluoroacétamide (BSTFA);

le triméthylsilylimidazone (TSIM), et
la triméthylsilyldiéthylamine (TSMDEA) sont également utilisés;

ces différents réactifs sont parfois employés en mélange;

- par la présence de catalyseurs dont le principal est le triméthylchlorosilane (TMCS);
- par la nature du solvant, le plus courant étant la pyridine, le diméthylformamide (DMF), le tétrahydrofuranne.

CHAMBAZ et HORNING (72) ont retenu pour les stéroïdes un certain nombre de combinaisons, comme plus réactives :

- le BSA à la température ambiante,
- le BSA/TMCS ou le BSTFA/TMCS à la température ambiante ou à 60° C,
- le mélange TSIM/BSA/TMCS à 60-80° C.

Pour les alcanamines stéroïdiques, nous avons essayé,

- d'une part des réactifs à base de HMDS/TMCS, certains utilisant la pyridine comme solvant, tels

- . le TRISIL (Pierce Chemical Company), qui correspond à un mélange de HMDS-TMCS-pyridine en proportions non divulguées,
- . le SILPREP (Applied Science Laboratories) ou HMDS-TMCS-PYRIDINE (3:1:9),
- . le TMS reagent P (Nutritional Biochemical Corporation) ou HMDS-TMCS-PYRIDINE (2:1:2),

d'autres employant la diméthylformamide, tels

- . le SILPREP-DMF (A.S.L.) ou HMDS-TMCS-DMF (4:1:4),
- . le TMS reagent D (N.B.C.) ou HMDS-TMCS-DMF (2:1:2);

- d'autre part des réactifs à base de B.S.A.,

- . BSA (A.S.L.)
- . BSA-pyridine 1:1 (N.B.C.)
- . BSA-TMCS-DMF 5:4:1 (N.B.C.)

En ce qui concerne le choix du solvant, on peut utiliser aussi bien la pyridine que le diméthylformamide, tous deux dissolvant aussi bien les alcanamines.

Avec les réactifs à base d'HMDS, nous avons toujours obtenu deux pics sur SE 30 (figure n° 36).

L'un de ces pics (A) correspond au dérivé O-silylé, comme nous avons pu le mettre en évidence en comparant les résultats à ceux obtenus dans les mêmes conditions opératoires avec la solanidine dont l'azote est tertiaire et dont le groupement 3 β -hydroxylé se transforme quantitativement, et avec la tigogénine, sapogénine correspondant à la soladulcidine dans laquelle l'azote secondaire est remplacé par un oxygène, qui ne donne donc également qu'un pic et ce, quantitativement (figure n° 37).

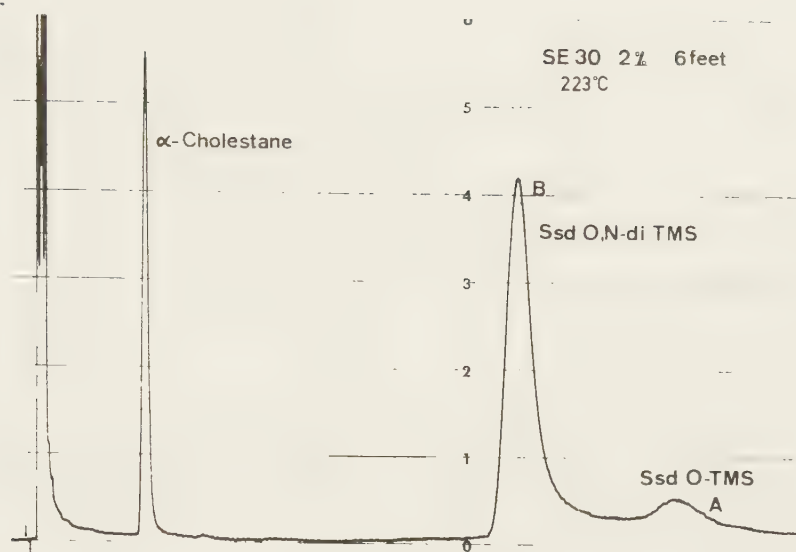
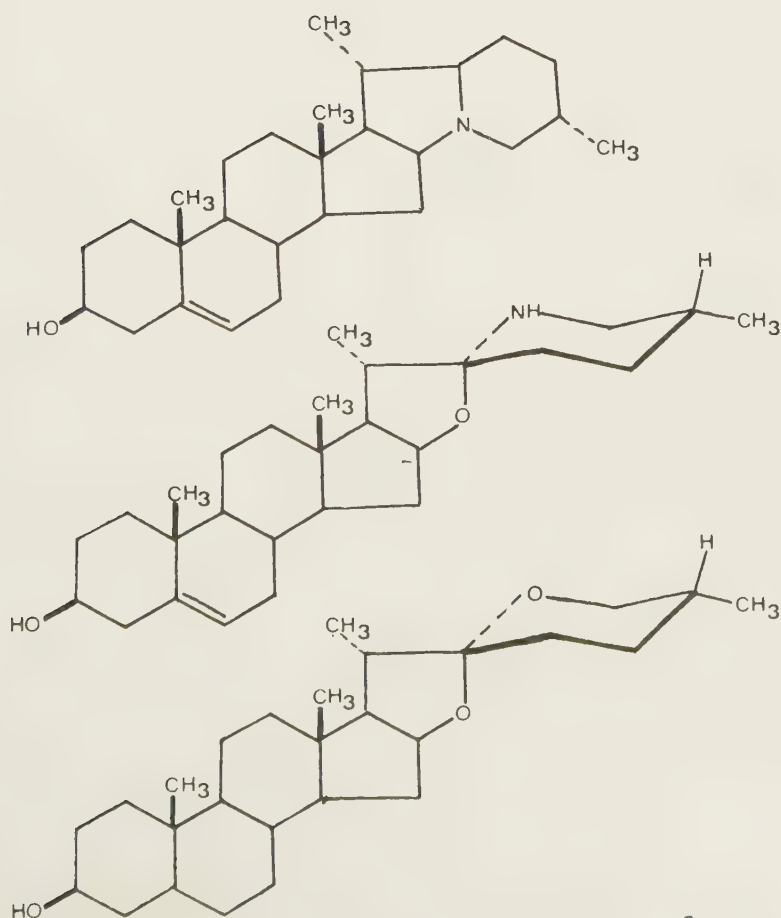


Figure n° 36

Conditions de la transformation : 1 mg de solasodine (Ssd) + 0,50 ml de SILPREP -
1 h à 60° C en ampoule scellée.



Solanidine

- un seul dérivé possible (O-)
- un pic obtenu

Solasodine

- trois dérivés possibles (O-, N-, O- et N-)
- deux pics obtenus

Tigogénine

- un dérivé possible (O-)
- un pic obtenu

Figure n° 37

L'autre pic (B), dont l'importance relative croît lorsque les conditions opératoires (température, concentration, durée) sont améliorées, correspond au dérivé O, N-disilylé.

Sur SE 30, la transformation en dérivé O- silylé augmente le temps de rétention, tandis que la disubstitution de l'alcamine sur l'oxygène et l'azote le raccourcit; il devient même inférieur à celui de l'aglycone non substitué.

Les réactifs à base de BSA, ne donnent avec la solasodine, dans certaines conditions opératoires, qu'un seul pic sur le chromatogramme, de même temps de rétention que le pic B en-dessus. Ils sont aptes à transformer quantitativement les fonctions hydroxylée et aminée de cet alcamine (figure n° 38).

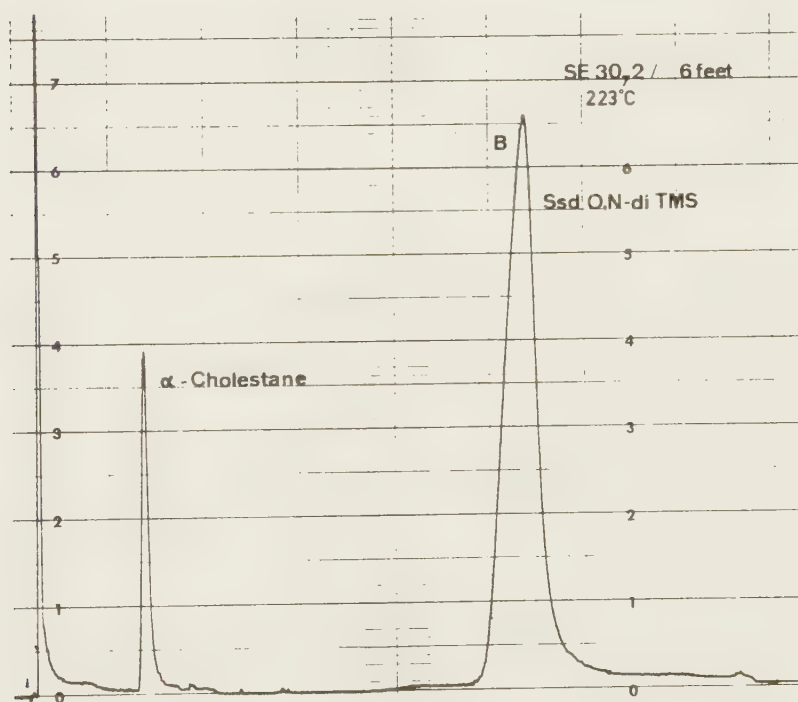


Figure n° 38

Conditions de la transformation : 1 mg de solasodine (Ssd) + 0,5 ml de B S A - 1 h 30 à 20° C en ampoule scellée

Parmi ces réactifs, celui composé de BSA-TMCS-DMF est peu commode à employer, car il est diphasique. D'autre part, les alcanamines se dissolvant facilement dans le BSA, l'adjonction de pyridine est sans intérêt. Nous avons retenu le BSA seul.

Après quelques essais, nous avons adopté le mode opératoire M.O. 7 b.

e) Résultats de nos essais

Les produits essayés ont été :

- la démissidine (KOCH-LIGHT Laboratories LTD),
- la solanidine (KOCH-LIGHT Laboratories ou préparée comme il sera dit plus loin),
- la solasodine (de mêmes origines),
- la tomatidine (provenant de l'hydrolyse de la tomatine SERLABO ou préparée dans notre laboratoire),
- le tomatidéno1 (de notre préparation).

Nous les avons chromatographiés ainsi que leurs dérivés silylés à différentes températures sur SE 30, OV 1, SE 52, XE 60, et QF 1. Nous avons retenu la température qui semblait donner la meilleure séparation.

Le débit a été choisi de la même façon à la température précédemment déterminée.

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux VII, VIII, IX X et XI.

Les grandeurs de rétention réduites relatives à l' α -cholestane (α_{AB}) indiquées dans ces tableaux correspondent à la moyenne de trois expériences au minimum : seules les α_{AB} de la phase choisie ont été calculées statistiquement.

SE 30 2 %, 6 feet, 1/8 inch				
Alcalimines	Température :	210° C	α _{AB} solanidine : 2,13 démissidine : 2,17	α _{AB} solasodine : 4,06 tomatidénol : 4,12 tomatidine : 4,26
	Débit :	20 ml/mn	n = 1400 plateaux	n = 1200 plateaux
	α-Cholestane :	13 mn 44 s		
Alcalimines TMS	Température :	230°C	α _{AB} solanidine-O-TMS : 2,44 démissidine-O-TMS : 2,47	α _{AB} solasodine-O,N-diTMS : 4,38 tomatidénol-O,N-diTMS: 4,57 tomatidine-O,N-diTMS : 4,65
	Débit :	30 ml/mn	n = 1500 plateaux	n = 1300 plateaux
	α-Cholestane :	7 mn 26 s		

Tableau n° VII

OV 1 2 %, 6 feet, 1/8 inch				
Alcalimines	Température :	220° C	α _{AB} solanidine : 2,10 démissidine : 2,12	α _{AB} solasodine : 3,82 tomatidénol : 4,03 tomatidène : 4,26
	Débit :	30 ml/mn	n = 1600 plateaux	n = 1500 plateaux
	α-Cholestane :	13 mn 27 s		
Alcalimines TMS	Température :	230° C	α _{AB} solanidine-O-TMS : 2,47 démissidine-O-TMS : 2,48	α _{AB} solasodine-O,N-diTMS : 4,26 tomatidénol-O,N-diTMS: 4,39 tomatidine-O,N-diTMS : 4,51
	Débit :	30 ml/mn	n = 1700 plateaux	n = 1600 plateaux
	α-Cholestane :	9 mn 48 s		

Tableau n° VIII

SE 52 2 %, 6 feet, 1/8 inch			
Alcamines	Température : 240° C Débit : 30 ml/mn α-Cholestane : 7 mn 16 s	α _{AB} solanidine : 2,14 démissidine : 2,25 n = 1600 plateaux	α _{AB} soladine : 4,27 tomatidénol : 4,34 tomatidine : 4,40 n = 1400 plateaux
Alcamines TMS	Température : 240° C Débit : 30 ml/mn α-Cholestane : 7 mn 16 s	α _{AB} solanidine-O-TMS : 2,40 démissidine-O-TMS : 2,42 n = 1700 plateaux	α _{AB} solasodine-O,N-diTMS : 4,46 tomatidénol-O,N-diTMS : 4,67 tomatidine-O,N-diTMS : 4,73 n = 1500 plateaux

Tableau IX

XE 60 2 %, 6 feet, 1/8 inch			
Alcamines	Température : 220° C Débit : 30 ml/mn α-Cholestane : 3 mn 11 s	α _{AB} solanidine : 5,56 démissidine : 5,69 n = 1200 plateaux	α _{AB} solasodine : 15,05 tomatidénol : 16,54 tomatidine : 17,06 n = 1000 plateaux
Alcamines TMS	Température : 220° C Débit : 30 ml/mn α-Cholestane : 3 mn 11 s	α _{AB} solamidine-O-TMS : 2,35 démissidine-O-TMS : 2,37 n = 1400 plateaux	α _{AB} solasodine-O,N-diTMS : 6,60 tomatidénol-O,N-diTMS : 6,72 tomatidine-O,N-diTMS : 7,02 n = 1200 plateaux

Tableau X

QF 1 2 %, 6 feet, 1/8 inch				
Alcalimines	Température : 225° C	$\alpha_{AB} \pm \sigma_m^t$ solanidine : 3,02 + 0,02 démissidine : 3,23 ± 0,02 n = 1600 plateaux	$\alpha_{AB} \pm \sigma_m^t$ solasodine : 6,45 + 0,05 tomatidéol : 6,93 ± 0,03 tomatidine : 7,68 ± 0,05 n = 1400 plateaux	
	Débit : 30 ml/mn			
	α-Cholestane : 5 mn 5 s			
Alcalimines TMS	Température : 225° C	α_{AB} solanidine-0-TMS : 2,28 démissidine-0-TMS : 2,40 n = 1700 plateaux	α_{AB} solasodine-0,N-diTMS : 4,35 tomatidéol-0,N-diTMS : 5,34 tomatidine-0,N-diTMS : 5,77 n = 1500 plateaux	
	Débit : 30 ml/mn			
	α-Cholestane : 5 mn 5 s			

Tableau XI

De même que pour la chromatographie sur papier et la chromatographie en couche mince, nous remarquons que la principale difficulté réside en la séparation des dérivés 5 α (H) - 5-ènes. La transformation en dérivés TMS n'apporte aucune solution à ce problème.

Dans la plupart de ces essais, nous n'avons obtenu que deux pics plus ou moins déformés, l'un correspondant aux dérivés de la solanidine, l'autre aux dérivés de la tomatanine. Seule la chromatographie des aglycones non transformés sur QF 1 nous a donné des résultats satisfaisants ; nous avons retenu cette méthode (M.O. 7 c). Un chromatogramme de cette séparation est reproduit figure n° 39.

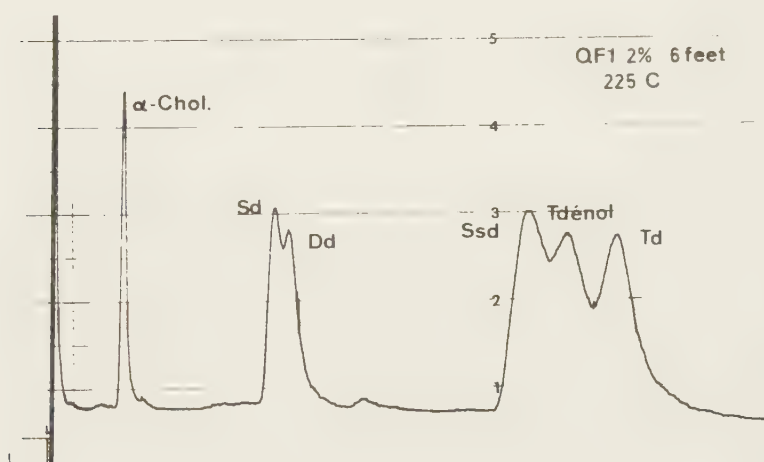


Figure n° 39

α -chol. = α -cholestane ; Sd = solanidine ;
Dd = démissidine ; Ssd = solasodine ;
Tdénol = tomatidénol ; Td = tomatidine.

Les facteurs de résolution des cinq alcalamines chromatographiées par cette méthode sont indiqués dans le tableau n° XII.

	Solanidine	Démissidine	Solasodine	Tomatidénol	Tomatidine
Solanidine	—	0,7	3,3	3,6	3,9
Démissidine	0,7	—	3,1	3,3	3,7
Solasodine	3,3	3,1	—	0,6	1,5
Tomatidénol	3,6	3,3	0,6	—	1,0
Tomatidine	3,9	3,7	1,5	1,0	—

Tableau n° XII

On peut remarquer dans ce tableau que la séparation de la solanidine et de la démissidine, ainsi que celle du tomatidénol par rapport à la solasodine ne permettent pas une analyse quantitative si ces substances sont en mélange. Celle-ci serait de toutes façons difficile, car nous avons remarqué qu'il se produit une perte de substance par adsorption sur le support, ceci principalement lorsqu'une colonne neuve est utilisée.

Cette méthode possède en outre un autre inconvénient : la température de colonne utilisée (225° C) est proche de la température maximum qui peut être supportée (230° C); il en résulte que la durée de vie de la colonne est relativement brève.

. Interprétation des résultats

Les réglages - en particulier de la température - d'un appareil à chromatographie gazeuse sont quelquefois difficilement reproductibles; de plus, on peut même parfois observer une évolution dans le temps des grandeurs de rétention obtenues pour un réglage déterminé. Il s'en suit une variabilité dans les résultats, variabilité qui est atténuée par l'utilisation de grandeurs de rétention relatives. Cependant, des résultats isolés peuvent encore se trouver assez éloignés des chiffres indiqués dans le tableau n° XI.

Nous avons calculé ainsi que la grandeur de rétention relative au cholestane de la solanidine pouvait se situer entre 2,96 et 3,08 et pour la tomatidine, entre 7,45 et 7,91, lors d'une injection isolée (probabilité de 95 %).

De façon à limiter ces écarts, nous avons chromatographié avant chaque analyse un mélange témoin. Une série d'essais systématiques nous a montré en effet que deux injections successives d'une même substance donnaient des valeurs s'écartant seulement de $\pm 0,03$ dans le cas des dérivés de la tomatanine (probabilité de 95 %). La comparaison des valeurs obtenues dans ces conditions nous a donc permis d'augmenter la précision des identifications.

4 - Couplage de la chromatographie en couche mince avec la chromatographie gazeuse.

Le comportement chromatographique semblable de deux substances, en couche mince ou en phase gazeuse, ne suffit pas pour présumer de leur identité. Pour procéder avec une probabilité satisfaisante à l'identification des différentes alcalamines, nous nous sommes basés sur la concordance des résultats obtenus en utilisant ces deux techniques, chaque substance séparée par chromatographie en couche mince étant analysée individuellement par, après élution, par chromatographie gazeuse (M.O. 8).

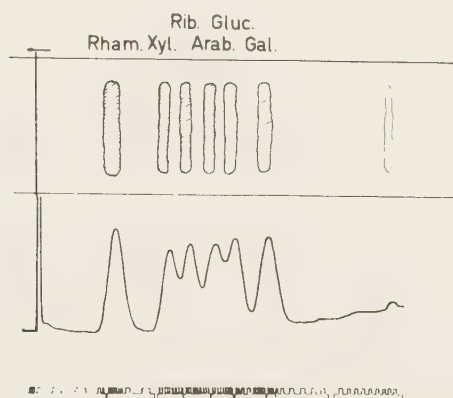
V - ETUDE DE LA COMPOSITION DE LA CHAÎNE SUCREE

Afin de préciser la composition de la chaîne sucrée unie à l'aglycone de chaque glucoalcaloïde, nous avons recherché une méthode simple permettant d'identifier et d'évaluer les oses libérés par hydrolyse.

Nous avons limité notre étude aux six sucres qui entrent le plus souvent dans la composition des hétérosides et plus spécialement des glucoalcaloïdes, à savoir le glucose, le galactose, le ribose, le xylose, l'arabinose et le rhamnose. Les cétooses quelquefois rencontrés (fructose), ont été recherchés par la coloration jaune qu'ils donnent avec la dimédone en milieu phosphorique (321) (M.O. 9).

La chromatographie en couche mince peut permettre une identification satisfaisante. La mobilité des sucres dépend de leur poids moléculaire et du nombre de groupements hydroxylés; les sucres stéréoisomères auront donc tendance à mal se séparer (130, 121). Leur résolution a été améliorée par l'utilisation de gel de silice ou de kieselguhr tamponnés par des acides faibles, comme l'acétate de sodium (320, 223, 23, 178, ...), le phosphate disodique (178), le borate de sodium (141).

Parmi les nombreuses possibilités présentées par STAHL (321) et LATO (178), nous avons retenu le mélange classique, n butanol-pyridine-eau (178, 110, 361) dans les proportions de 9:5:2. Ce solvant nous a permis de séparer nettement les six sucres essayés sur gel de silice non tamponné, à condition toutefois d'utiliser des plaques très régulières (plaques fines MERCK) et d'effectuer un dépôt très fin, ce que nous avons pu réaliser avec le "Chromatocharger CAMAG" (M.O. 10). La figure n° 40 donne un schéma de cette séparation.



Les Rf obtenus sont :

	$x \pm \sigma_{mt}$
Galactose	: 0,31 $\pm$ 0,01
Glucose	: 0,41 $\pm$ 0,01
Arabinose	: 0,48 $\pm$ 0,01
Ribose	: 0,56 $\pm$ 0,01
Xylose	: 0,62 $\pm$ 0,01
Rhamnose	: 0,78 $\pm$ 0,01

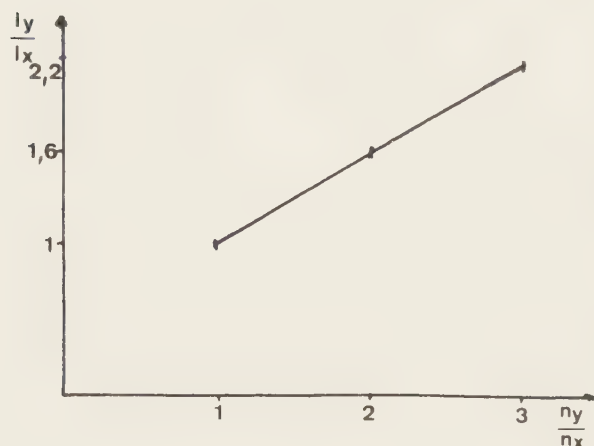
Figure n° 40

Le pourcentage de chaque ose dans le mélange a été déterminé par évaluation photométrique (figure n° 40) de la coloration qu'ils donnent en présence d' α -naphtol en milieu sulfurique dans des conditions déterminées (M.O. 9).

La coloration n'est pas tout à fait identique pour chacun des oses : les hexoses se colorent en gris violet, les pentoses en gris ardoise et le méthylpentose en rose violet. Cependant, pour une même quantité moléculaire, la densité optique de chacune des taches s'est révélée sensiblement identique.

L'intensité de la coloration donnée pour chacun des sucres croît avec sa quantité. En considérant qu'il peut exister de un à quatre sucres dans le mélange, le rapport des intensités des taches à l'intensité la plus faible est de 1 dans le cas d'une équimolarité, et approximativement de 1,60 dans le cas d'une quantité double et de 2,20 si un sucre existe en quantité trois fois plus importante, ceci étant

valable pour des densités optiques allant jusqu'à 0,30 au maximum de coloration. Cette variation est représentée sur la figure n° 41.



$$\frac{I_y}{I_x} = 0,60 \frac{n_y}{n_x} + 0,40 \text{ pour } I_y \geq T_x$$

$$\text{et } 1 \leq \frac{n_y}{n_x} \leq 3$$

$\frac{I_y}{I_x}$ = rapport de l'intensité de la tache Y par rapport à celle de la tache x ;

$\frac{n_y}{n_x}$ = nombre de molécule osidique de la tache y par rapport à celui de la tache x.

Figure n° 41

Cette méthode complète les indications données par la valeur des Rf obtenus lors de la chromatographie en couche mince des glucoalcaloïdes sur le nombre d'oses de la chaîne sucrée; ces deux données permettent de déterminer la composition de celle-ci.

METHODES D'ANALYSE QUANTITATIVE

Nous nous sommes limités au dosage des glucoalcaloïdes totaux, seul nécessaire pour contrôler les différentes étapes de l'extraction et permettre l'étude des variations du taux de ces substances dans les différents organes des *Solanum* en fonction des stades de végétation.

De nombreuses méthodes ont été proposées; elles ont été rapportées par FAUCHER (97); aucune méthode générale fondamentalement nouvelle n'a été utilisée depuis.

Nous en avons employé deux :

- la première évalue la coloration bleue donnée par les glucoalcaloïdes 5-ène en présence de formol et d'acide phosphorique (CLARKE (77) (M.O. 11 a);

- la seconde dose volumétriquement en milieu peu dissociant la basicité de la partie alcaloïdique par la fonction acide fort du bleu de bromophénol (BBP; tétrabromophénolsulfonephtaléine), sa fonction acide faible servant d'indicateur de fin de réaction (FAUCHER(97) (M.O. 11 b).

Ces deux méthodes de dosage nous ont donné des résultats sensiblement équivalents pour les glucoalcaloïdes purs insaturés. Lors d'un mélange avec des glucoalcaloïdes saturés, la différence des résultats obtenus par ces deux méthodes permet de déduire la quantité de glucoalcaloïdes 5-ène présents.

Dans la pratique, l'interprétation de ces résultats est parfois délicate : en effet, ceux obtenus avec le bleu de bromophénol se sont souvent révélés supérieurs à ceux obtenus par la méthode de CLARKE, mais nous ne sommes pas certains qu'il faille attribuer ces différences à la présence de glucoalcaloïdes 5-ène et non à la présence d'impuretés titrables ou encore à des traces d'humidité qui retardent le virage.

C H A P I T R E I I I

METHODES D'EXTRACTION DES GLUCOALCALOIDES ET DE LEURS AGLYCONES

Nous envisageons dans ce chapitre :

- l'extraction quantitative des glucoalcaloïdes dans un but analytique,
- et l'obtention des glucoalcaloïdes et des aglycones à l'état pur ainsi que leur identification.

I - OBTENTION D'UN TOTUM GLUCOALCALOIDIQUE PURIFIE

Cette opération est réalisée quantitativement sur peu de matière première, lorsqu'elle est pratiquée dans un but analytique ; appliquée à une quantité plus importante, elle constitue le premier stade de l'extraction préparative des glucoalcaloïdes.

Elle met essentiellement en jeu des phénomènes de solubilité. D'une manière générale,

. les glucoalcaloïdes sont solubles dans les solvants polaires (eau, alcools) ; cette propriété est due à la présence de la chaîne sucrée et est d'autant plus marquée que cette chaîne est plus longue et le poids moléculaire de l'alcool moins élevé ; les alcools hydratés sont meilleurs solvants que les alcools anhydres (97) ;

. leur solubilité est modifiée selon le pH : ils sont plus solubles dans les acides dilués sous forme de sels (caractère alcaloïdique) et moins solubles dans l'eau alcalinisée ;

. ils sont insolubles dans les solvants organiques peu ou non polaires (benzène, sulfure de carbone, chloroforme, éther...).

I - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Cette première étape de l'extraction comprend :

. l'extraction proprement dite, par épuisement de la matière première, qui conduit aux glucoalcaloïdes bruts,

. la purification de cet extrait qui aboutit aux glucoalcaloïdes totaux purifiés.

A - EXTRACTION PROPREMENT DITE

Elle est réalisée à partir des organes frais (40, 50, 315...), ou séchés (24, 159, 32, 334). POGORELOVA (228) a déterminé la température de dessiccation de 80° C comme permettant le meilleur rendement d'extraction de la solanine à partir des germes de Pomme de terre.

Elle est effectuée en milieux aqueux ou alcoolique.

Extraction en milieu aqueux

L'eau a été utilisée à l'ébullition (147, 170).

Le plus souvent, les acides dilués froids sont employés :

. acide acétique (102, 67, 316, 14, 360, 29, 27, 197, 288) qui permettrait un meilleur rendement d'extraction que les acides minéraux (145),

- . acide sulfurique (19, 80, 315, 227, 33...),
- . acide métaphosphorique (230),
- . acide nitrique (340),
- . acide chlorhydrique (46),
- . acide citrique (179),
- . acide tartrique (131).

Les glucoalcaloïdes sont ensuite précipités par alcalinisation (234). Cette précipitation n'est cependant pas complète, ce qui oblige dans le cas d'un dosage, à appliquer un facteur de correction (44, 247, 221, 181,...) ou à extraire la solution-mère par un solvant non miscible comme isoamylol (97).

Extraction en milieu alcoolique

Les alcools sont en général employés à chaud en décoction de la plante fraîche, ce qui permet de la stabiliser; ou par percolation (SOXHLET) de la poudre de la drogue sèche.

Le méthanol est souvent utilisé, absolu (40, 345, 58, 368, 16, 311,...) ou à 90 % (288), parfois, en présence d'acide acétique (98). BITE (31) conseille d'imprégner la poudre par de l'acide acétique préalablement à l'épuisement méthanolique, dans le but d'obtenir une extraction plus quantitative.

L'éthanol est employé à des titres variant de 80^c à 96^c (97, 73, 107, 198, 288, 27, 255, ...) ; il est quelquefois acidifié par l'acide acétique (247, 94, 309, 218, 126,...) ou l'acide tartrique (126).

L'alcool isopropylique a été proposé (224).

Les liquides extractifs sont ensuite évaporés pour obtenir les glucoalcaloïdes bruts.

B - PURIFICATION

Les glucoalcaloïdes bruts obtenus sont plus ou moins impurs (chlorophylle, saponosides, graisses, ...) suivant le mode d'extraction utilisé ; un certain nombre de purifications ont été proposées :

- . le lavage à l'eau ammoniacale (247, 288, 365) ou par des solvants des graisses : éther de pétrole ou éther éthylique (69, 132, 368), le benzène (244), le benzène mélangé à l'éther (98, 309, 288) ;

- . la dissolution dans l'acide acétique et la précipitation par une base (311, 14, 94, 131, 239, 156) ;

La dissolution dans un alcool, comme le méthanol (67, 172, 340, 244, 29, 360, 334, 32,...), l'éthanol (315, 108, 159, 123, 46,...) l'isopropanol (10), l'amylol (125) ; l'alcool est quelquefois acidifié (126) ou utilisé en mélange avec du chloroforme (309); la solution peut être agitée avec divers adsorbants comme la magnésie (219), le kieselguhr (45), le noir animal (123, 267, 337), l'alumine (125) ;

- . la dissolution dans le méthanol et la précipitation par l'acétone (270, 234) ;

- . la dissolution dans la pyridine ou le diméthylformamide et la précipitation par l'éther (288) ;

- . la précipitation à l'état de chromates (123) ;

- . la transformation en dérivé à l'azote de l'aldéhyde salicylique, puis régénération (309) ;

- . la fixation sur échangeur de cations puis élution : la résine WOFATIT KPS (forme H^+) a été utilisée (244, 243) ainsi que la résine DUOLITE CIO (forme H^+) (218) ; cette méthode permet l'élimination des saponosides qui ne sont pas retenus par l'échangeur ;

- . la chromatographie sur alumine dans du butanol saturé d'eau (165) qui permet de séparer la chlorophylle.

II - EXTRACTION ANALYTIQUE DES GLUCOALCALOIDES

Nous avons préparé les extraits destinés au dosage et à l'identification des glucoalcaloïdes des Solanacées selon la méthode proposée par FAUCHER (97) (M.O. 11).

III - EXTRACTION PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES

Chaque stade de l'extraction a été contrôlé analytiquement pour :

. déceler une éventuelle modification qualitative ; nous avons pour cela utilisé la chromatographie en couche mince ;

. préciser les pertes résultant de chaque opération ; les dosages de CLARKE et au B.B.P. ont été effectués dans ce but ; les résultats ont été rapportés à l'extrait sec des solutions analysées ou au poids sec de la matière première ou des produits obtenus (M.O. 12) ;

. évaluer le degré de pureté obtenu ; pour cela, nous avons calculé le rapport

$$\frac{\text{glucoalcaloïdes}}{\text{poids ou extrait sec}} ;$$

nous avons également suivi l'élimination des impuretés colorées, en déterminant la densité optique au maximum d'absorption des solutions, généralement à 430 mμ.

Nous avons procédé à l'extraction des glucoalcaloïdes de la Pomme de terre, de la Tomate, de la Morelle et de la Douce-amère.

A - CHOIX DES MATIERES PREMIERES

Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)

Les germes sont les plus riches en glucoalcaloïdes (115, 82, 274, 44) ; ils constituent donc la matière première préférable pour leur extraction (228).

Nous avons effectué l'extraction à partir de germes de Pomme de terre de diverses variétés commerciales (BINTJE, SIRTEMA,...), que nous avons obtenus grâce à l'obligeance d'agriculteurs de la commune d'Aigrefeuille-sur-Maine(44).

Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

Ce sont les feuilles (163, 270, 105) et les fruits verts (311) qui sont habituellement utilisés comme source de glucoalcaloïdes ; le taux diminue lorsque les fruits commencent à mûrir (337, 146).

Nous avons utilisé les parties aériennes, à l'époque des fruits verts, de Tomates (variété commerciale LA NANTAISE) cultivées à Aigrefeuille (44).

Morelle (*Solanum nigrum* L.) et Douce-amère (*Solanum dulcamara* L.)

De même que pour la Tomate, les fruits verts et les feuilles sont les plus riches en glucoalcaloïdes (266, 97) ; nous avons donc également utilisé les parties aériennes en début de fructification.

La Morelle a été récoltée à Aigrefeuille (44) ; la Douce-amère a été recueillie en partie à Nantes (Malakoff-44), en partie à Saint Herblain (44).

B - EXTRACTION PROPREMENT DITE

1 - Méthode utilisée

Nous avons préféré l'extraction par l'eau en milieu acide à l'extraction en milieu alcoolique pour des raisons de commodité (il est plus facile d'effectuer dans un laboratoire une macération qu'une extraction, sous réfrigérant, de vingt kilogrammes de matières premières) et de prix (quarante à cinquante litres d'alcool auraient été nécessaires).

Les plantes fraîches sont broyées le plus rapidement possible après la récolte dans de l'acide acétique à 5 % (pH 3,5). Après macération de 24 h à l'obscurité dans un endroit frais, les glucoalcaloïdes, à l'état d'acétates, sont précipités de la solution à l'état de bases, par l'ammoniaque concentré (pH 9) et isolés par centrifugation (M.O. 13).

Remarques

a) Une hydrolyse chimique, résultant du pH du milieu d'extraction n'est pas à redouter ; ZWEUGER (375) a en effet remarqué qu'en milieu même très acide, il ne se produisait aucune hydrolyse à froid. Il est cependant nécessaire d'opérer dans un endroit frais, FAUCHER (97) ayant observé que la chaleur du soleil sur une solution acide suffisait à provoquer un début de dégradation.

b) Cette méthode ne présente pas l'avantage de l'extraction alcoolique de pouvoir effectuer une stabilisation ; d'autre part, le broyage de la plante fraîche peut favoriser une hydrolyse partielle enzymatique des glucoalcaloïdes, à la suite de leur mise en contact avec diverses hydrolases (232, 124, 125, 97). Cette hydrolyse, d'importance secondaire puisque nous ne cherchions pas à établir la composition de la plante, n'a cependant pas été observée par comparaison des intensités des taches en C.C.M. après traitement et sur un échantillon stabilisé. Peut-être l'acidité du milieu d'extraction n'est-elle pas favorable à l'action de ces enzymes.

c) Cette méthode d'extraction n'est pas quantitative : un seul épuisement ne peut prétendre solubiliser la totalité des glucoalcaloïdes, et ceux-ci sont, de plus, partiellement solubles dans l'eau ammoniacale. A une récupération intégrale de ces substances, il nous a cependant semblé préférable d'effectuer, si besoin, une autre extraction sur une nouvelle quantité de matière première.

d) Certains glucoalcaloïdes (leptines) se comportent comme des ions amphotères et ne sont pas précipités par l'ammoniaque (169). Nous n'avons observé, lors des extractions, aucune différence entre la composition en glucoalcaloïdes des précipités par l'ammoniaque et celle d'un extrait méthanolique de la plante.

2 - Résultats

a) Qualitativement

L'analyse de la matière première par chromatographie en couche mince nous a montré la présence de six taches principales pour la Douce-amère (R_f : 0,26 - 0,30 - 0,38 - 0,43 - 0,57 - 0,61) de trois pour la Morelle (R_f : 0,26 - 0,38 - 0,57), de deux pour la Pomme de terre (R_f : 0,24 - 0,90) et d'une pour la Tomate (R_f : 0,34). Ces taches principales sont parfois accompagnées d'autres beaucoup moins importantes dont nous ne nous sommes pas occupés sur un plan préparatif ; il en sera reparlé plus loin lors de l'étude analytique des Solanacées indigènes.

Les mêmes taches, semblant posséder les mêmes intensités, ont été retrouvées dans les glucoalcaloïdes bruts préparés à partir des quatre plantes.

b) Quantitativement

Le bilan de cette première étape de l'extraction est résumé dans le tableau n°XIII.

MATIERES PREMIERES				GLUCOALCALOIDES BRUTS				
Nature	Poids frais traité	Taux en G.A. par rapport au poids sec		Poids obtenu	Rendement en G.A.		Pureté des G.A. obtenus	
		Clarke	BBP		Clarke	BBP	Clarke	BBP
Douce-amère	20 Kg	0,80%	0,75%	100 g	93 %	99 %	22 %	22 %
Morelle	22,5 Kg	0,32%	0,30%	54 g	61 %	70 %	14 %	15 %
Tomate	21,5 Kg	0 %	0,70%	43 g	-	47 %	-	27 %
Pomme de terre	18,8 Kg	1,98%	2,02%	76 g	70 %	82 %	41 %	48 %

Tableau n° XIII

Les résultats sont exprimés en solanine (P.M.:868) pour la Pomme de terre, en tomatine (P.M.:1034) pour la Tomate, en solasonine (P.M.:884) pour la Morelle et en α -solamarine (P.M.:884) pour la Douce-amère.

Nous remarquons dans ce tableau, l'absence de glucoalcaloïdes insaturés dans la Tomate et l'absence probable, tout au moins en quantité importante, de glucoalcaloïdes saturés dans les autres plantes. Par la suite, nous ne ferons part que des résultats obtenus avec le B.B.P.

Les rendements en glucoalcaloïdes peuvent être considérés comme satisfaisants, excepté cependant pour la Tomate.

C - PURIFICATION

Essais et choix d'une méthode

Nous avons essayé certaines méthodes de purification sur des glucoalcaloïdes bruts de la Douce-amère préparés comme précédemment :

. solubilisation dans le méthanol ; un bon rendement a été obtenu par décoction des glucoalcaloïdes bruts sous réfrigérant à reflux pendant une demi-heure ;

. utilisation d'adsorbants par agitation à froid dans la solution méthanolique ; l'alumine anhydre, la magnésie légère, le clarcel et

le charbon animal ont été essayés. En général, une diminution du taux de glucoalcaloïdes a été observée (ceci est surtout marqué pour l'alumine et le noir animal) sans obtention d'une pureté plus élevée ; il se produit une décoloration de la solution, mais celle-ci va de pair avec la disparition des glucoalcaloïdes ;

- . précipitation de la solution méthanolique à saturation par cinq fois son volume d'acétone ;

- . précipitation d'une solution dans la pyridine du résidu d'évaporation de la solution méthanolique par quinze fois son volume d'éther ;

- . purification de la solution méthanolique par un échangeur d'anions (Amberlite IRA 401 (OH)) ;

- . même purification suivie de la précipitation par l'éther des glucoalcaloïdes mis en solution dans la pyridine ;

- . fixation des glucoalcaloïdes sur Amberlite IR 120 (H), puis leur élution par le méthanol chlorhydrique (9 :1).

Après chaque expérience, les glucoalcaloïdes obtenus ont été dissous dans un volume de méthanol identique au volume de départ de façon à pouvoir comparer les concentrations en glucoalcaloïdes de ces diverses solutions. Les résultats de ces essais sont rassemblés dans le tableau n° XIV.

On peut remarquer :

- . que la précipitation des glucoalcaloïdes sur Amberlite IR 120 (H), puis leur élution par le méthanol chlorhydrique donne les produits les plus purs ; les matières colorantes sont par contre peu éliminées, et il se produit des pertes : nous avons en effet observé que tous les glucoalcaloïdes ne se fixaient pas sur la colonne, bien qu'ils fussent qualitativement identiques à ceux fixés ;

	Extrait méthanolique quantitatif	Extraction méthanolique préparative	Précipitation de la solution méthanolique par l'acétone	Précipitation de la solution méthanolique dans la pyridine par l'éther	Purification par l'Amberlite IRA 401 (OH)	Amberlite IRA 401 (OH) + précipitation par l'éther	Fixation sur Amberlite IR 120 (H) et élution
Glucoalcaloïdes en % (P/V) (B. B. P.)	0,35	0,30	0,12	0,25	0,30	0,25	0,18
Rendement en glucoalcaloïdes en % (B. B. P.)	100	86	42	71	86	71	57
Densité optique à 420 mμ	-	2,13	2,07	2,03	0,13	0,08	1,33
Pureté des glucoalcaloïdes obtenus en % (B. B. P.)	26	43	48	45	60	62	90

Tableau n° XIV

. que la purification par l'Amberlite IRA 401 (OH) retient la quasi totalité des matières colorantes vertes, sans perte en glucoalcaloïdes ; la décoloration de l'éluat (jaune) peut être complétée en précipitant par l'éther le résidu d'évaporation de la solution méthanolique, dissous dans la pyridine. Nous avons retenu ce procédé (M.O. 14).

Matières colorantes

Nous avons effectué le spectre visible de la solution méthanolique de glucoalcaloïdes avant et après passage sur Amberlite IRA 401 (OH) et après précipitation par l'éther (figure n° 42).

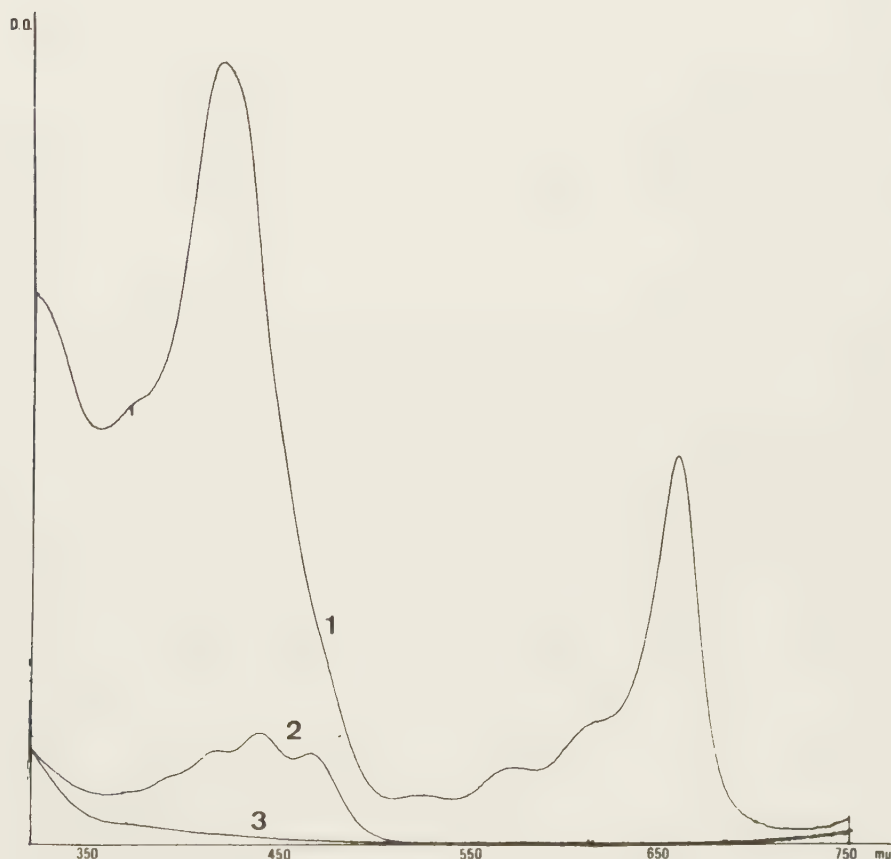


Figure n° 42

- 1 : avant passage sur Amberlite IRA 401 (OH),
- 2 : après passage sur Amberlite IRA 401 (OH),
- 3 : après dissolution dans la pyridine et précipitation par l'éther.

Les longueurs d'onde des maximum d'absorption semblent indiquer la présence de chlorophylle a (tableau n° 15), bien que présentant un léger effet hypsochrome, peut être dû aux impuretés ou au solvant.

	Maximum d'absorption en mμ						
Chlorophylle a dans l'éther selon (374)	660	614	576	532	429	410	-
Extrait méthanolique des glucoalcaloïdes bruts	660	615	573	525	420	-	375

Tableau n° XV

Il faut donc admettre que la chlorophylle a se soit dissoute dans l'acide acétique, fut ensuite précipitée par l'ammoniaque puis se soit fixée sur échangeurs d'anions, ce qui est contraire à ses propriétés lorsqu'elle est à l'état pur.

Si la dissolution dans l'acide acétique dilué et la précipitation par l'ammoniaque peut s'expliquer par un phénomène d'hydrotropie dû à la présence des glucoalcaloïdes ou de saponosides, par contre, la fixation sur résine anionique est plus difficile à interpréter. Peut-être y aurait-il une complexation avec les glucoalcaloïdes ; cela pourrait peut-être également expliquer la fixation partielle des glucoalcaloïdes et de la chlorophylle sur échangeur de cations. Nous ne sommes pas parvenus à réaliser cette complexation in vitro, avec ou sans saponosides.⁺

Résultats

Le rendement en glucoalcaloïdes bruts de la purification et la pureté obtenue sont résumés dans le tableau n° XVI.

+ Nous remercions Monsieur BIARD d'avoir effectué ces essais.

	Glucoalcaloïdes bruts		Glucoalcaloïdes purifiés		
	Quantité traitée	Pureté (B.B.P.)	Quantité obtenue	Rendement en glucoalcaloïdes	Pureté des Glucoalcaloïdes
Douce-amère	40 g	22 %	6,3 g	56 %	80 %
Morelle	30 g	15 %	3,0 g	63 %	95 %
Tomate	30 g	27 %	8,1 g	63 %	61 %
Pomme de terre	30 g	48 %	9,1 g	53 %	84 %

Tableau n° XVI

Le rendement en glucoalcaloïdes est inférieur à celui obtenu lors des essais, ce qui est probablement dû au fait de la manipulation de plus grosses quantités ; la purification s'est, par contre, montrée meilleure.

Qualitativement, nous n'avons pas observé de variation lors de ces purifications.

Il est possible de schématiser ainsi la méthode d'obtention des glucoalcaloïdes purifiés, que nous avons employée ; elle est applicable à partir de toutes les matières premières :

```

Plante fraîche
↓
Extraction par l'acide acétique à 5 %
↓
Précipitation par l'ammoniaque
↓
Dissolution dans le méthanol
↓
Purification par l'Amberlite IRA 401 (OH)
↓
Evaporation sous pression réduite
↓
Dissolution dans la pyridine
↓
Précipitation des glucoalcaloïdes purifiés par l'éther.

```


II - FRACTIONNEMENT PREPARATIF ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

Le totum glucoalcaloïdique purifié est fractionné en ses composants que l'on identifie après cristallisation.

I - FRACTIONNEMENT PREPARATIF DES GLUCOALCALOIDES

A - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Deux méthodes sont utilisées : la précipitation fractionnée à l'état de cholestérides et la chromatographie sur colonne.

1 - Précipitation des cholestérides

Le cholestérol peut s'associer en milieu alcoolique avec les glucoalcaloïdes tétraosidiques pour donner un précipité qui permet de les séparer et dont il est possible de les régénérer.

La tomatine (259, 260, 310, 86), la démissine (259) et la soladulcidine tétraoside (259, 367, 264) qu'il est difficile d'obtenir pure, ont été ainsi isolées.

La précipitation est pratiquement quantitative pour la tomatine, ce qui permet de la doser gravimétriquement (264, 310, 259).

Certains triosides ne seraient pas précipités, comme l' α -solamarine (367). D'autres, comme la solasonine et la solamargine le seraient plus ou moins complètement (279). Ceci limite donc le champ d'application de ce procédé à certains fractionnements bien précis.

2 - Fractionnement par chromatographie sur colonne

La méthode la plus utilisée (279, 39, 41, 288, 289) est celle de KUHN et LÖW (166, 165) qui ont séparé sur alumine les glucoalcaloïdes de la Pomme de terre et de *Solanum aviculare* à l'aide du butanol saturé d'eau et du butanol plus ou moins additionné d'acétate d'éthyle.

BOGNAR (37) préfère opérer sur alumine, avec le solvant qu'il avait déjà proposé en chromatographie en couche mince : chloroforme - éthanol - ammoniacal à 1 % (20 : 25 : 10). RÖNSCH utilisa sur silicagel imprégné de chloroforme ammoniacal, le chloroforme-méthanol-eau (75 : 25 : 4).

SEELKOPF (316) employa le méthanol à 80 %, sur alumine.

B - ESSAIS ET CHOIX D'UNE METHODE

Nous avons effectué des essais de fractionnement par chromatographie sur colonne et par chromatographie en couche mince préparative.

Chromatographie sur colonne

Nos expériences sont résumées dans le tableau n° XVII. Nous n'avons observé avec le clarcel, aucune amélioration par rapport à l'alumine (activité II-III)

Solvant	Adsorbant	Matières premières dont sont extraits les glucoalcaloïdes
Butanol saturé d'eau	Alumine (Activité II-III)	Tomate Pomme de terre Morelle Douce-amère
Butanol saturé d'eau- acétate d'éthyle (15 : 3)	Alumine (Activité II-III)	Douce-amère
Acétate d'éthyle - pyridine - eau (3 : 1 : 3)	Alumine (Activité II-III) Clarcel	Douce-amère Douce-amère
Chloroforme - éthanol - ammoniaque à 1 % (2 : 2 : 1)	Alumine (Activité II-III)	Morelle
Chloroforme - méthanol - ammoniaque à 1 % (2 : 2 : 1)	Alumine (Activité II-III) Clarcel	{ Tomate Pomme de terre Morelle Douce-amère Douce-amère

Tableau n° XVII

Ces différents solvants nous ont donné d'autre part, des résultats sensiblement équivalents : comme pour la chromatographie en couche mince, la migration des glucoalcaloïdes dépend de la longueur et de la structure de la chaîne sucrée ; deux aglycones, stéréoisomères ou ne différant que par une double liaison, reliés à une partie osidique identique ne seront pas séparés.

Un exemple de fractionnement des glucoalcaloïdes de la Douce-amère est donné figure n° 43. Les concentrations figurées sont évaluées par comparaison des intensités obtenues lors d'essais à la touche au B.B.P. et sur les chromatographies en couche mince analytiques après révélation au trichlorure d'antimoine.

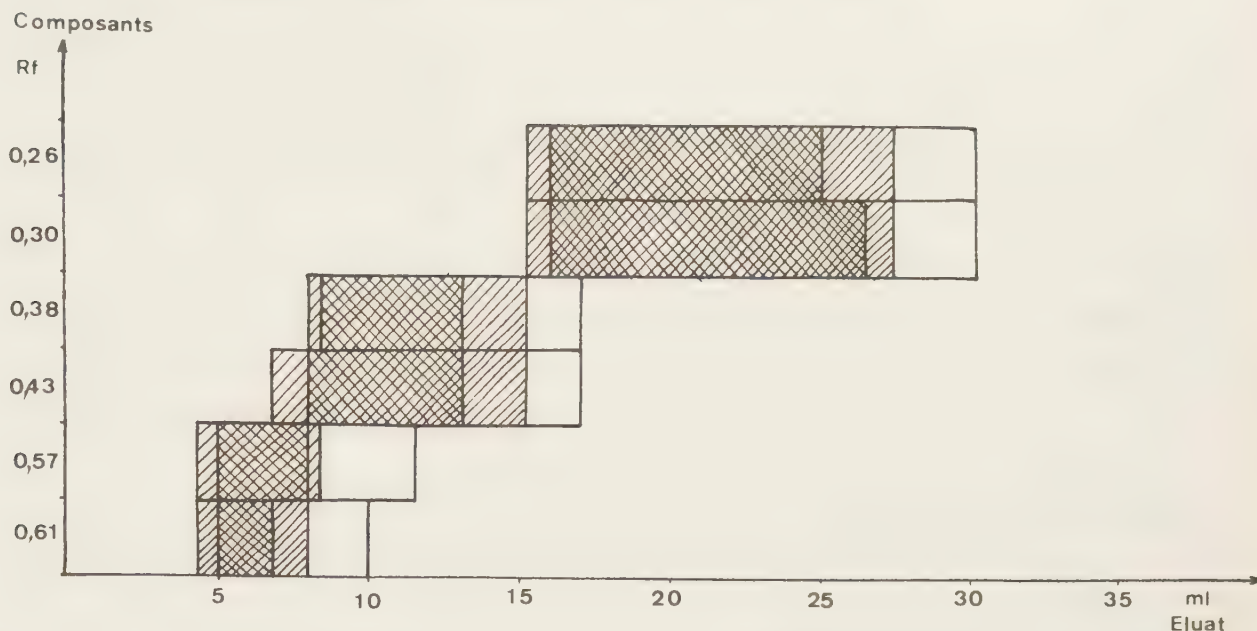


Figure n° 43

Séparation des glucoalcaloïdes purifiés de la Douce-amère

- . colonne : 1 x 10 cm - Adsorbant : 8 g d' Al_2O_3 (activité II-III)
- . solvant et éluant : $CHCl_3$ - CH_3OH - NH_4OH à 1 % (20 : 20 : 10)
- . dépôt : 8 mg dans 0,4 ml de solvant

Concentrations :  forte  moyenne  faible

Nous avons utilisé cette même méthode à l'échelle préparative, sur une colonne de 40 x 4 cm, pour fractionner les glucoalcaloïdes purifiés de la Pomme de terre (200 mg) et de la Tomate (300 mg) (M.O.15).

Nous avons séparé des premiers les deux substances principales de Rf 0,90 (éluat : 255 à 360 ml ; 48 mg) et de Rf 0,24 (éluat : 1350 à 3300 ml ; 138 mg). Des seconds, nous avons isolé le glucoalcaloïde principal (éluat : 1100 à 2090 ml ; 158 mg) d'autres constituants en moindre quantité qui correspondent probablement à des saponosides (coloration jaune avec le p-anisaldéhyde lors des révélations des chromatographies en couche mince).

Chromatographie préparative en couche mince

N'ayant pu séparer par chromatographie sur colonne certains glucoalcaloïdes ne différant que par leur aglycone (isomérisation ou insaturation), nous nous sommes adressés à la chromatographie préparative en couche mince.

Des plaques (20 x 20 cm) de silicagel de 0,5 mm d'épaisseur sont utilisées. La révélation, après migration, est effectuée bilatéralement et la localisation des substances est complétée par une observation sous lumière U.V. où elles montrent une légère fluorescence.

Les zones non révélées, correspondant à chaque tâche, sont grattées et éluées avec du méthanol qui est ensuite évaporé.

Ce procédé est plus rapide que la chromatographie sur colonne, demande une moins grande quantité de solvant, et permet surtout une meilleure visualisation du développement, ce qui permet d'éliminer plus facilement certains composés indésirables, à l'état de traces. Cette méthode est cependant plus délicate que la chromatographie préparative en couche mince des aglycones (Cf. plus loin) et pour obtenir de bons développements, nous avons dû suivant les solvants, limiter les dépôts à 10-15 mg de glucoalcaloïdes par plaque.

Nous avons utilisé ce mode de séparation (M.O. 16) pour les glucoalcaloïdes bruts de la Douce-amère et de la Morelle, et également pour ceux de la Tomate et de la Pomme de terre.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux n° 18, n° 19, n° 20 et n° 21. Les substances y sont identifiées par leur Rf dans le solvant habituel des glucoalcaloïdes.

Prise d' essai	Identification (Rf)	Solvant		Nombre de Chromatographies	Quantité obtenue
		Composition	Rf		
1 g	0,26	Acétate d'éthyle	0,45	69	369 mg
	0,38	Pyridine	0,60		193 mg
	0,57	Eau (3:1:3)	0,70		357 mg

Tableau n° XVIII - Morelle

Prise d'essai	Identification (Rf)	Solvant Composition	Rf	Nombre de Chromatographies	Quantité obtenue
2 g	I 0,26 II 0,30 III 0,38 IV 0,43 V 0,57 VI 0,61	CHCl ₃ 6 CH ₃ OH 2	0,10 0,10 0,25 0,35 0,55 0,75	152	1,100g(I+II) 240mg(III±IV) 250mg(IV±V) 25mg(V) 26mg(VI)
0,700g	I 0,26 II 0,30	Acétate d'éthyle 3 Pyridine 1 Eau 3	0,45 0,50	70	450mg(I±II) 175mg(II)
0,280g	I 0,26 (±II) 0,30	Acétate d'éthyle 3 Pyridine 1 Eau 3	0,45 0,50	28	130mg(I) 28mg(II)
0,240g	III 0,38 (±IV) 0,43	CHCl ₃ 6 CH ₃ OH 2,5	0,35 0,55	25	200mg(III±IV) -
0,170g	III 0,38 (±IV) 0,43	CHCl ₃ 2 CH ₃ OH 2 NH ₄ OH 1 % 1	0,38 0,43	17	60mg(III) -
0,250g	IV 0,43 (±V) 0,57	CHCl ₃ 6 CH ₃ OH 2,5	0,55 0,75	30	207mg(IV±V) -
0,200g	IV 0,43 (±V) 0,57	CHCl ₃ 2 CH ₃ OH 2 NH ₄ OH 1 % 1	0,43 0,57	20	120mg(IV) -

Tableau n°XIX - Douce-amère

On peut constater dans ce tableau, la difficulté qu'il y a à isoler, même par cette méthode, les glucoalcaloïdes possédant une chaîne osidique identique. Trois séries de chromatographies pour les substances I, II, III et IV ont été nécessaires. Il semble cependant que les migrations utilisées pour purifier les substances III et IV dans le CHCl₃ - CH₃OH (6 ; 2,5) ne sont pas indispensables. Le faible rendement des chromatographies de III et IV dans le solvant CHCl₃ - CH₃OH - NH₄OH à 1 % (2 : 2 : 1) est expliqué par notre souci d'obtenir des glucoalcaloïdes extrêmement purs.

Prise d' essai	Identification (Rf)	Solvant Composition		Rf	Nombre de Chromatographie	Quantité obtenue	
325mg	0,24	CHCl ₃	2	0,24	32	112 mg	
	0,90	CH ₃ OH	2	0,90		60 mg	
		NH ₄ OH 1 %	1				

Tableau n° XX - Pomme de terre

Prise d' essai	Identification (Rf)	Solvant Composition		Rf	Nombre de Chromatographie	Quantité Obtenue
200 mg	0,34	CHCl ₃	2	0,34	16	80 mg
		CH ₃ OH	2			
		NH ₄ OH 1%	1			

Tableau n°XXI - Tomate

II - CRISTALLISATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

A - CRISTALLISATION DES GLUCOALCALOIDES

La cristallisation des glucoalcaloïdes est une opération difficile, car ils ont tendance à former des gels avec les solvants polaires (97, 21, 234).

Différentes méthodes ont été employées :

. la cristallisation par refroidissement dans le dioxane aqueux (21, 50, 264), le méthanol de 75 à 100 % (270, 54, 243) ou l'éthanol de 50^c à 80^c (21, 334, 52, 50),

. l'insolubilisation dans le méthanol par l'acétone (243, 234) ou l'eau (243).

Nous avons essayé toutes ces méthodes. Par refroidissement dans le méthanol, le glucoalcaloïde extrait de la Tomate a cristallisé sous forme d'aiguilles (M.O.17 b). Par insolubilisation dans le méthanol par l'eau, nous avons obtenu des aiguilles pour le glucoalcaloïde de la Pomme de terre (de Rf 0,24) et des microcristaux pour ceux de la Douce-amère possédant les Rf : 0,57 et 0,61 et pour celui de la Morelle dont le Rf est de 0,57 (M.O. 17 a).

La substance extraite de la Pomme de terre, de Rf : 0,90, a été également obtenue sous forme de microcristaux, par précipitation de sa solution méthanolique par l'eau alcalinisée par l'ammoniaque. Ce mode opératoire est celui de la cristallisation des aglycones (M.O. 21).

Pour les autres glucoalcaloïdes, nous avons toujours obtenu des gels quelque soit le mode opératoire utilisé. Après lavage à l'éther, ils se présentent sous forme d'une poudre amorphe, blanche.

B - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

Les glucoalcaloïdes extraits par les méthodes précédentes ont été identifiés par la détermination des substances libérées par hydrolyse, oses et aglycone, et, pour ceux qui ont été obtenus à l'état cristallisé, par leur point de fusion en tube capillaire (BÜCHI) et leur analyse élémentaire⁺. Pour ce dernier critère, les cristaux ont été préalablement portés 4 heures à la température de 120° C, puis 12 heures sous vide phosphorique.

En ce qui concerne les substances isolées de la Pomme de terre,

. celle de Rf : 0,24 possède les mêmes caractéristiques que la solanine :

- l'analyse élémentaire donne : C = 61,62 ; H = 8,39,
N = 1,19 (calculé : C = 62,26, H = 8,48, N = 1,61) ;

+ Nous remercions le Laboratoire de Pharmacie Chimique du Professeur PLOQUIN d'avoir effectué cette détermination

- son point de fusion est de 275° C avec décomposition (littérature : $276 - 278^{\circ}$ C (16 a)) ;
- l'hydrolyse libre de la solanidine , 1 galactose, 1 glucose et 1 rhamnose ;

. le deuxième principe (Rf. : 0,90) n'est pas hydrolysable ; il possède le même comportement chromatographique que la solanidine ;

- l'analyse élémentaire donne : C = 80,98, H = 10,37, N = 2,78 (calculé : C = 81,55, H = 10,90, N = 3,52) ;
- son point de fusion est de 207° C (littérature : 207° C (179) à 224° C (252)).

Le glucoalcaloïde isolé de la Tomate est identique à la tomatine :

- l'analyse élémentaire donne : C = 57,68, H = 7,78, N = 1,08 (calculé : C = 58,07, H = 8,09, N = 1,35) ;
- son point de fusion est de 264° C avec décomposition (littérature : $260 - 265^{\circ}$ C (296)) ;
- il est composé de tomatidine lié à 1 galactose, 2 glucoses, 1 xylose.

En ce qui concerne les glucoalcaloïdes isolés de la Morelle,

. celui de Rf. = 0,26 possède une composition identique à la solasodine : solasodine, 1 glucose, 1 rhamnose et 1 galactose ;

. celui de Rf. = 0,38 possède les composants de l' α -solamargine : solasodine, 1 glucose et 2 rhamnoses ;

. celui de Rf. = 0,57 est identique à la β -solamargine :

- l'analyse élémentaire donne : C = 64,25, H = 8,63, N = 1,62 (calculé : C = 64,89, H = 8,80, N = 1,94) ;
- son point de fusion est de 240° C avec décomposition (littérature : $240 - 245^{\circ}$ C (165)) ;

- l'hydrolyse libre de la solasodine, 1 glucose et 1 rhamnose.

Pour les six glucoalcaloïdes isolés de Douce-amère,

. celui de Rf. : 0,26 libre par hydrolyse les mêmes composants que la solasonine : solasodine, 1 glucose, 1 rhamnose et 1 galactose ;

. celui de Rf. = 0,30 libre les mêmes que l' α -solamarine : tomatidénol, 1 glucose, 1 rhamnose, 1 galactose ;

. celui de Rf. = 0,38 possède une composition identique à l' α -solamargine : solasodine, 1 glucose et 2 rhamnoses ;

. celui de Rf. = 0,43 possède les composants de la β -solamarine : tomatidénol, 1 glucose et 2 rhamnoses ;

. celui de Rf. = 0,57 est identique à la β -solamargine :

- l'analyse élémentaire : C = 64,60 , H = 8,73, N = 1,65
(calculé : C = 64,89, H = 8,80, N = 1,94) ;

- son point de fusion est de 242° C avec décomposition (littérature 240 - 245° C (165)) ;

- l'hydrolyse libre de la solasodine, 1 glucose et 1 rhamnose ;

. celui de Rf. = 0,61 est identique à la γ_2 -solamarine ; il n'est cependant pas exclu qu'il puisse être souillé de γ_1 -solamarine ;

- l'analyse élémentaire donne : C = 64,30 , H = 8,80,
N = 1,58 (calculé : C = 64,89, H = 8,80, N = 1,94) ;

- son point de fusion est de 242° C avec décomposition (littérature γ_1 -solamarine = 268 - 271° C (243) ; γ_2 -solamarine = 232 - 234° C (243), 243 - 248° C (39)) ;

- il est composé de tomatidénol, lié à 1 glucose et 1 rhamnose.

III - OBTENTION DES AGLYCONES

Les aglycones peuvent être obtenus par hydrolyse de glucoalcaloïdes isolés ou du totum glucoalcaloïdique purifié. Ce dernier procédé nous a semblé préférable ; en effet,

- . le fractionnement des alcalamines est plus aisé à réaliser que celui des glucoalcaloïdes,

- . l'hydrolyse d'un glucoalcaloïde fournit à côté de son aglycone des produits de dégradation qu'il est nécessaire de séparer, ce qui peut être réalisé en même temps que le fractionnement des alcalamines.

Nous envisageons donc successivement l'hydrolyse préparative d'un totum glucoalcaloïdique, le fractionnement des aglycones libérés, puis leur cristallisation et leur identification.

I - HYDROLYSE PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES

Le mode opératoire retenu diffère peu dans son principe de celui utilisé pour l'hydrolyse analytique des glucoalcaloïdes. Comme les alcalamines seules sont récupérées, on l'effectue en milieu méthanolique où les dégradations sont minimum (M.O. 18). Quatre vingt pour cent des aglycones sont, environ, récupérés.

Lors de l'hydrolyse des totum glucoalcaloïdiques, nous avons obtenu les rendements suivants (Tableau n° XXII)

	Glucoalcaloïdes purifiés traités	Aglycones obtenus
Douce-amère	3,5 g	1,319 g
Morelle	2 g	0,476 g
Pomme de terre	2 g	0,540 g
Tomate	2 g	0,340 g

Tableau n° XXII

Nous avons analysé les aglycones par chromatographie en couche mince. Nous avons trouvé :

- . pour la Tomate, deux taches de Rf. : 0,67 et 0,80, la seconde étant de faible intensité;
- . pour la Pomme de terre, deux substances de Rf. : 0,41 (forte) et 0,62 (faible) ;
- . pour la Morelle, quatre taches de Rf. : 0,08 (faible), 0,51 (forte), 0,67 et 0,71 (faibles) ;
- . pour la Douce-amère, cinq taches de Rf. : 0,08 et 0,13 (faibles) 0,51 et 0,67 (fortes), 0,71 et 0,80 (faibles).

Dans ce but préparatif, nous ne nous sommes occupés que des taches de forte intensité. Nous avons, en particulier, délaissé celles, très faibles, qui possèdent les Rf les plus élevés.

Elles correspondent probablement de ce fait, (substances moins polaires) et par comparaisons aux données de la littérature, à des produits de déshydratation se formant lors de l'hydrolyse. Ces substances apparaissent d'ailleurs en plus grande quantité lorsque l'on effectue l'hydrolyse d'un glucoalcaloïde pur dans des conditions défavorables.

II - FRACTIONNEMENT PREPARATIF DES AGLYCONES

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Deux cas peuvent se présenter selon que l'on désire seulement séparer un aglycone de ses produits de dégradation ou fractionner des aglycones accompagnés de ces mêmes produits.

Dans la première éventualité, on note, dans la littérature, l'utilisation de tampons phosphatés pour séparer la solasodine du solasodiène (65) et, plus souvent, l'emploi de la chromatographie sur alumine :

BOLL (39) purifie le tomatidénol à l'aide du benzène additionné de quantités croissantes de chloroforme ; BOGNAR (37) utilise pour cela la mélange acétate d'éthyle-cyclohexane (2 : 1) ; SCHREIBER (288, 289) emploie le benzène-méthanol en proportions variables pour isoler la solanidine ou la solasodine, ou encore (304) le benzène-acide acétique (7 : 3) pour purifier un mélange de solasodine et de soladulcidine.

La chromatographie sur alumine est également utilisée pour fractionner les mélanges d'aglycones : séparation des aglycones 3 β -hydroxy du groupe 3 β ,15 α -dihydroxy-tomatidénol et -tomatidine et du groupe 3 β ,15 α -dihydroxy-solasodine et -soladulcidine (RÖNSCH (244)) ; fractionnement de la

solasodine et du tomatidéanol par l'acétate d'éthyle-cyclohexane (2 : 1) (MAKLEIT (191)) ; ces derniers aglycones ont également été séparés par chromatographie en couche préparative sur alumine (1,304).

Pour séparer les alcanines ne différant que par leur insaturation en 5(6), il a été fait appel, comme pour la chromatographie analytique, à la chromatographie en couche mince sur gel de silice imprégné de nitrate d'argent. RÖNSCH (245, 244) fractionne ces substances par ce procédé à l'aide du chloroforme-méthanol (90 : 10 ou 95 : 5) ou du chloroforme-éther éthylique-acide acétique (97 : 2,5 : 0,5).

Nous avons expérimenté la chromatographie sur colonne d'alumine et la chromatographie préparative en couche mince sur gel de silice.

FRACTIONNEMENT PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE

Nous avons retenu deux solvants.

Le mélange benzène-méthanol (9 : 1) nous a permis d'isoler l'aglycone principal de la Tomate qui possède en chromatographie en couche mince, un R_f de 0,67 de celui de R_f : 0,80. Sur une colonne de 30 x 3 cm d'alumine (activité I), nous avons obtenu, à partir de 100 mg d'aglycones solubilisés dans le benzène, 2 mg du composé de R_f : 0,80 (135 à 160 ml), 2 mg du mélange des substances de R_f : 0,80 et 0,67 (160 à 165 ml) et 74 mg de ce dernier principe (165 à 210 ml) (M.O.19).

Le solvant acétate d'éthyle-cyclohexane (2 : 1) convient pour isoler sur alumine (activité I) les deux substances principales des aglycones totaux de la Douce-amère (R_f : 0,51 et 0,67). Il est intéressant d'accélérer le passage de la deuxième substance (R_f : 0,51) en remplaçant ce solvant par le chloroforme-méthanol (19 : 1) lorsque celle de R_f : 0,67 a été éluée. Nous n'avons pas appliqué cette technique à une échelle préparative.

FRACTIONNEMENT PAR CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE EN COUCHE MINCE

Les séparations ont été effectuées sur gel de silice dans le solvant utilisé pour la chromatographie en couche mince analytique des agly-

cones : chloroforme-méthanol (9 : 1).

Nous avons employé cette méthode (M.O. 20) rapide et facile pour le fractionnement des alcalamines de la Pomme de terre, de la Tomate, de la Morelle et de la Douce-amère. Les résultats sont rassemblés dans le tableau n° XXIII.

Matière première	Prise d'essai (aglycones bruts)	Nombre de plaques de silicagel utilisées (20x20x0,05cm)	Rf des alcalamines	Quantité obtenue
Pomme de terre	0,250 g	13	0,46	127 mg
Tomate	0,145 g	8	0,67	94 mg
Morelle	0,550 g	20	0,51	275 mg
Douce-amère	1,160 g	34	0,51 0,51+0,67 0,67	373 mg 156 mg 277 mg

Tableau n° XXIII

III - CRISTALLISATION ET IDENTIFICATION DES AGLYCONES

Les poudres amorphes d'aglycones sont cristallisées dans le méthanol/eau jusqu'à point de fusion constant.(M.O.21).

La pureté des alcalamines obtenues est contrôlée par chromatographie en couche mince et par chromatographie gazeuse. Elles sont identifiées par leur point de fusion, leur pouvoir rotatoire, leur analyse élémentaire, leur spectre infrarouge⁺ et leur comportement vis-à-vis du réactif de CLARKE.

Les points de fusion ont été pris en tube capillaire. Les pouvoirs rotatoires (Polarimètre ZEISS à 0,05°) ont été déterminés avec la raie D du sodium, dans le chloroforme (C = 0,84) et à une température de 23° C. Les spectres IR ont été effectués en micropastilles de bromure de potassium.

Par ces méthodes, l'aglycone isolé de la tomate a été identifié à la tomatidine :

. la chromatographie en couche mince montre une seule tache dont le Rf (0,67) est identique à celui de la tomatidine SERLABO ;

+ Nous remercions Monsieur CORNETEAU d'avoir bien voulu effectuer ces spectres

. il ne donne qu'un pic en chromatographie gazeuse de même temps de rétention relatif que la tomatidine témoin (7,50) ;

. l'analyse élémentaire donne : C = 78,25 , H = 10,81, N = 3,40
(calculé : C = 78,02 , H = 10,91, N = 3,37) ;

. son point de fusion est de 203° C (littérature : 203°C (342) à 210° C (293)) ;

. son pouvoir rotatoire est de + 7° ($\pm 1^{\circ}5$) (littérature : 7°6(281) 8° (342) ;

. son spectre infrarouge est sensiblement identique à celui de la tomatidine SERLABO ;

. la réaction de CLARKE, négative, montre que cet aglycone est saturé en 5(6).

L'aglycone isolé de la Pomme de terre correspond à la solanidine :

. il ne montre qu'une tache en chromatographie en couche mince de Rf (0,46) identique à celui de la solanidine KOCH LIGHT ;

. son comportement en chromatographie gazeuse est également identique à ce même témoin (α_{AB} : 3,02) ;

. l'analyse élémentaire donne C = 81,55 , H = 10,87 , N = 3,52
(calculé : C = 81,55 , H = 10,90 , N = 3,52) ;

. son point de fusion est de 208 - 210° C (littérature : 207° C (14) à 224° C (282) ;

. le pouvoir rotatoire est de - 21° ($\pm 1,5$) (littérature : - 23° (299) à - 27°3 (303)) ;

. son spectre infrarouge est superposable à celui de la solanidine KOCH LIGHT ;

. la réaction de CLARKE est positive, ce qui montre l'insaturation de cet aglycone en 5(6).

L'aglycone isolé de la Morelle est identifié à la solasodine :

. la chromatographie en couche mince montre une seule tache de même Rf (0,51) que la solasodine KOCH LIGHT ;

. il ne donne qu'un pic en chromatographie gazeuse, de même temps de rétention que la solasodine ($\alpha_{AB} = 6,32$) ;

. l'analyse élémentaire donne : C = 78,54 , H = 10,47 , N = 3,40 (calculé : C = 78,40 , H = 10,48 , N = 3,39) ;

. son point de fusion est de 197° C (littérature 199°C (300), 197° C (50));

. son pouvoir rotatoire est de -105° ($\pm 1,5$) (littérature - 107°6 (300), - 118° (342));

. son spectre infrarouge est superposable à celui de la solasodine KOCH LIGHT ;

. la réaction de CLARKE est positive, montrant l'insaturation de cette alcalamine en 5(6).

De la Douce-amère, ont été isolés deux aglycones. Le premier a été identifié également comme étant de la solasodine :

. mêmes caractéristiques chromatographiques que la solasodine KOCH LIGHT ;

. l'analyse élémentaire donne $C = 77,67$, $H = 10,17$, $N = 3,34$
(calculé : $C = 78,40$, $H = 10,48$, $N = 3,39$) ;

. le point de fusion est de 196° C (littérature : 199° C (300),
 197° C (50) ;

. le pouvoir rotatoire est de -102° ($\pm 1,5$) (littérature :
 $- 107^{\circ}6$ (300), $- 118^{\circ}$ (342) ;

. son spectre infrarouge est sensiblement identique à celui de la
solasodine KOCH LIGHT avec cependant de petites différences autour de 1070 cm^{-1}
et de 930 cm^{-1} ;

. la réaction de CLARKE est également positive.

Il semble que la solasodine obtenue soit un peu moins pure que
celle de la Morelle ; son identification ne fait cependant aucun doute.

Le deuxième aglycone de la Douce-amère correspond au tomatidénol.
Nous ne possédons pas de témoin de cette substance, cependant nous en avons
dédduit l'identité de :

. son comportement en chromatographie en couche mince qui est sem-
blable à celui de la tomatidine ;

. son temps de rétention pratiquement identique à celui de la
Tomatidine sur SE 30, OV 1, SE 52 et XE 60 et légèrement inférieur sur QF 1 ;

. l'analyse élémentaire : $C = 78,98$, $H = 3,37$, $N = 10,47$ (théori-
que : $C = 78,40$, $H = 3,39$, $N = 10,48$) ;

. son point de fusion : 229° C (littérature : 233° C (280), 240°
(39) ;

. son pouvoir rotatoire : $- 40^{\circ}$ ($\pm 1,5$)(littérature : $- 37^{\circ}8$ (280),
 $- 39^{\circ}1$ (302) ;

. son spectre infrarouge qui présente les mêmes longueurs d'onde de pics que ceux indiqués par SCHREIBER (302) ;

. la réaction de CLARKE, positive, qui montre la présence d'une double liaison en 5(6) ;

. la réduction de cette double liaison par l'hydrogène en présence de palladium-charbon actif (10 % Pd) qui conduit à la tomatidine.

CHAPITRE IV

GLUCOALCALOIDES DE QUELQUES SOLANACEES INDIGENES

Nous avons appliqué les différentes méthodes d'analyse qualitative et quantitative exposées précédemment à l'étude, en fonction des organes et des stades de végétation des glucoalcaloïdes de quelques Solanacées de la région nantaise : la Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), la Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.), la Morelle (*Solanum nigrum* L.) et la Douce-amère (*Solanum dulcamara* L.).

Avant d'exposer les résultats obtenus pour chacune de ces plantes, il est utile d'en préciser les conditions de prélèvement.

Prélèvements

Nous sommes partis de cultures de Pomme de terre et de Tomate de variétés commerciales connues et de "gîtes" de Douce-amère et de Morelle identifiées botaniquement (45, 106).

Nous nous sommes efforcés d'effectuer les prélèvements dans des conditions sensiblement identiques. BALCAR-SKRZYDLEWSKA (18, 17) a en effet observé, lors d'études sur les feuilles de *Solanum laciniatum* Ait. que le taux de glucoalcaloïdes variait suivant les conditions météorologiques ;

ainsi, un temps sec prolongé produit une augmentation du taux de glucoalcaloïdes ; de même, à l'échelle des vingt quatre heures, la teneur augmente le jour et diminue la nuit par temps chaud et ensoleillé , tandis qu'elle diminue constamment par temps pluvieux. Pour ces raisons, les prélèvements ont été effectués toujours à la même heure -entre 9 et 10 heures- et dans la mesure du possible, dans des conditions météorologiques saisonnières moyennes, en évitant les périodes de sécheresse "excessive" ou de pluie "abondante" .

Les récoltes, à chaque stade de végétation, ont été effectuées sur des pieds différents, afin d'éviter d'analyser un organe dont la composition chimique aurait pu être modifiée par la cueillette précédente. SANDER (257) avait ainsi remarqué que la défloration des pieds de Tomate était susceptible d'augmenter de 110 % le taux de tomatine dans les feuilles.

Les organes prélevés ont toujours été stabilisés le jour même de la récolte.

N.B. - En ce qui concerne la Morelle et la Douce-amère, il est possible que nous nous soyons trouvés en présence de "gîtes" réunissant des races chimiques différentes, tel que cela a déjà été observé par WILLUHN (367). Dans un travail extrêmement rigoureux, il eût été nécessaire de considérer chaque pied comme une entité ; il eût été alors impossible d'étudier la composition des différents stades de végétation, à moins de multiplier chaque pied par semis jusqu'à obtention d'une population homogène suffisante.

GLUCOALCALOIDES DE LA POMME DE TERRE

Solanum tuberosum L.

BAUP (20) trouva, en 1826, dans les germes et les tubercules de Pomme de terre une substance qu'il nomma "solanine" du fait de son analogie au principe retiré de la Douce-amère et de la Morelle par DESFOSSES.

CLEMO (78), en 1936, remarqua que les germes de quelques variétés pouvaient contenir en outre, à l'état libre, de la solanidine.

En 1954, KUHN (164) fractionna la solanine, jusqu'alors considérée comme une entité, en six composants différant par la nature de leur chaîne osidique, qu'il nomma α -, β - et γ -solanine, α -, β - et γ -chaconine, le composant le plus important étant de beaucoup l' α -solanine.⁺

Depuis, SCHREIBER (202), en 1957, a isolé le tomatidénol du produit d'hydrolyse de glucoalcaloïdes de germes de Pomme de terre, sans avoir

+ Rarement, l' α -chaconine est signalée comme étant alcaloïde principal (217)

mis toutefois, en évidence l'hétéroside correspondant.

La composition de la Pomme de terre en glucoalcaloïdes en fonction des organes, est résumée dans le tableau n° XXIV.

D'après ce tableau, les glucoalcaloïdes peuvent être présents dans toutes les parties de la Pomme de terre.

Cependant,

. toutes les variétés de Pommes de terre ne contiennent pas l'ensemble des substances indiquées ; si l' α -solanine a toujours été rencontrée, la solanidine n'a été trouvée que chez certaines variétés (78, 248) ; de même, la β - et la γ -solanine ainsi que la β - et la γ -chaconine n'ont pas été décelées par tous les auteurs (283) ;

. certains glucoalcaloïdes n'ont pas encore été rencontrés dans toutes les parties de la plante.

La teneur en glucoalcaloïdes totaux varie suivant les variétés (202, 181, 344) et les organes :

. les feuilles en contiennent de 15 à 300 mg pour 100 g (282, 255, 91), celles du sommet de la plante étant les plus riches (222),

. les tiges et les rhizomes possèdent un taux huit fois moins élevé (111),

. les germes renferment de 1, 2 à 3 g pour 100 g (283, 255),

. les tubercules de 5 à 40 mg pour 100 g (202, 15, 100, 13, 180, 181, 344), quelquefois plus (55 mg (47), 126 mg (15)).

Ces résultats sont exprimés en solanine par rapport au poids sec.

GLUCOALCALOIDES	ALCAMINES	OSES	LOCALISATION	REFERENCES
"Solanine" avant KUHN (220)	Solanidine		tubercules germes	78, 248, 241, 373 78
	Solanidine		tubercules racines germes feuilles fleurs baies vertes	20, 202, 248, ... 80 20, 78, 144, 248, ... 78, 91, 248, ... 80, 79, 248, ... 80
	Solanidine	L-rhamnose D-glucose D-galactose	tubercules rhizomes germes tiges feuilles	255, 217, ... 111 255, 204, 248, ... 283 164, 217, 111, 255, ...
β -Solanine	Solanidine	D-glucose D-galactose	feuilles	164
γ -Solanine	Solanidine	D-galactose	feuilles	164
α -Chaconine	Solanidine	D-glucose 2L-rhamnoses	tubercules germes tiges feuilles	217 217, 204 283 164
β -Chaconine	Solanidine	D-glucose L-rhamnose	feuilles	164
γ -Chaconine	Solanidine Tomatidénol	D-glucose	feuilles germes	164 277

Tableau n° XXIV

En ce qui concerne les tubercules, les pelures, sont généralement les plus riches, principalement autour des yeux (248, 93, 135, 338, 122, 15,...) bien que la distribution inverse ait été également observée (200, 117). Le taux augmente sous l'action de la lumière (202, 203, 117, 44, 158, 135, 136, 15,...), tandis que le tubercule verdit ; de nombreux auteurs (122, 117, 82, 184), ont étudié cette augmentation simultanée, mais indépendante, de la chlorophylle et des glucoalcaloïdes.

Dans les germes, l'illumination augmente le taux de chaconine et diminue celui de solanine (204).

Pour une variété déterminée, le taux des glucoalcaloïdes de chaque organe varie suivant les différents stades de végétation.

Lors de la germination, il se produit une augmentation de la solanine dans le tubercule (93, 135, 209), tandis que les germes se montrent d'autant plus riches qu'ils sont plus jeunes (204). Le germe donne tige et feuilles dont le taux va diminuant progressivement (231), et ceci plus rapidement chez les espèces cultivées que chez les espèces sauvages (222), jusqu'au début de la maturation des nouveaux tubercules (floraison). A cette période, il se produit alors une augmentation de la "solanine" des fanes (111), tandis que celle des tubercules diminue (202, 203, 359). Lors du stockage des tubercules, après la récolte on constate de nouveau une augmentation (248, 93, 209) jusqu'à la période de germination.

D'une manière générale, le taux des glucoalcaloïdes est maximum au niveau des zones méristématiques (204, 5), où ils se forment. Ils auraient un rôle dans la régulation de la croissance en contribuant à la biosynthèse des hormones de croissance de la plante (204).

Ces variations quantitatives en fonction des stades de végétation, peuvent affecter différemment les divers glucoalcaloïdes. Dans une variété à forte teneur en chaconine, PASESHNICHENKO (217) a remarqué que, lors de la croissance, c'est la chaconine qui diminuait surtout dans les pousses et la solanine dans les feuilles et les tubercules.

D'autres facteurs peuvent influencer sur le taux de glucoalcaloïdes, comme les conditions climatiques (13, 93), les engrais (202, 93, 254, 319, 215, 47), bien que, pour ceux-ci, les résultats publiés soient parfois contradictoires, et probablement certains parasites : LOCCI en 1967 (185) a montré que des champignons pouvaient provoquer une augmentation de la "solanine" ; WEIL (362, 363) pensait en 1906 que la solanine résultait d'actions bactériologiques.

RESULTATS DE NOS ESSAIS

A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES

Nos premiers essais, de nature qualitatifs, ont porté sur des germes mélangés de Pomme de terre de différentes variétés commerciales. Ensuite, nous avons étudié les différents organes de la Pomme de terre de la variété commerciale "KELTIA", en fonction des stades de végétation et cela sur un plan qualitatif et quantitatif.

Cette variété a été cultivée à AIGREFEUILLE (44), dans un sol léger n'ayant pas récemment reçu de fumier ni d'engrais. Les "semences" ont été mises en place le 19 mai 1970. Lors de la végétation, les pieds n'ont pas été buttés.

B - NATURE DES PRELEVEMENTS

Pour la KELTIA, les prélèvements ont été effectués à quatre stades de végétation :

- . lors de la germination, avant culture (germes de 10 cm),
- . avant la floraison,
- . pendant la floraison,
- . après la floraison.

Nous avons récolté, selon les périodes, racines, tubercules, germes, rhizomes, tiges, feuilles pétiolées et fleurs pédonculées. Nous n'avons pas obtenu de fruits.

Les caractéristiques des prélèvements sont indiquées dans le tableau n° XXV.

EPOQUE	ORGANE	POIDS FRAIS	POIDS SEC
Germination des "semences" a) (19/4/1970)	Tubercule b)	50 g	11,7 g
	Germes (10 cm environ)	50 g	5,9 g
Avant la floraison (22/5/1970)	Racines	45 g	14,7 g
	Tubercule-mère b)	49 g	3,0 g
	Rhizomes	30 g	3,5 g
	Tiges	50 g	2,6 g
	Feuilles	50 g	6,6 g
Pendant la floraison (juin 1970)	Racines	50 g	11,1 g
	Tubercules-filles b)	50 g	10,5 g
	Rhizomes	50 g	8,0 g
	Tiges	50 g	4,3 g
	Feuilles	50 g	8,8 g
Après la floraison c) (28/7/1970)	Fleurs	50 g	3,5 g
	Racines	14 g	3,7 g
	Tubercules-filles b)	50 g	8,4
	Tiges	50 g	4,7 g
	Feuilles	50 g	5,8 g

Tableau n° XXV

a) Les "semences" ont été mises à germer dans la pénombre ; elles ont été traitées sans avoir été exposées à la lumière.

b) Les tubercules ont toujours été choisis de même taille (50 g). Les analyses ont porté sur le tubercule entier.

c) Les prélèvements ont été effectués sur des pieds ayant fleuri.

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE

Les glucoalcaloïdes totaux ont été dosés par les techniques précisées précédemment. Les résultats sont exprimés en pourcentage d' α -solanine par rapport au poids sec (tableau n° XXVI).

ORGANE	EPOQUE			
	Germination	avant floraison	floraison	après floraison
Racines	-	0,29	0,26	0,18
Tubercule-mère	0,80	0,17	-	-
Tubercules-fil- les	-	-	0,22	0,12
Germes	0,22	-	-	-
Rhizomes	-	0,49	0,50	-
Tiges	-	0,20	0,02	0,04
Feuilles	-	0,78	0,45	0,78
Fleurs	-	-	3,47	-

Tableau n° XXVI

Certains résultats de ce tableau sont conformes à ceux cités dans la littérature ; ainsi :

. la richesse du tubercule en germination ; cependant le taux trouvé (0,80 %) est très supérieur à ceux considérés habituellement comme très élevés (0,13 %) ;

. la pauvreté des tiges et des tubercules dont le taux décroît lors de la végétation ;

. la diminution temporaire des glucoalcaloïdes dans les feuilles au moment de la floraison.

On peut, par contre observer :

. la pauvreté des germes et se demander, s'il y a une relation avec la richesse exceptionnelle du tubercule ou si cela vient du fait qu'ils n'ont pas été exposés à la lumière ;

. le taux élevé dans les rhizomes, pourtant situés entre le tubercule et la tige qui contiennent peu de glucoalcaloïdes ;

. la grande richesse des fleurs.

Pour les fleurs, il serait intéressant de déterminer si les glucoalcaloïdes se localisent dans le pédoncule ou le réceptacle et les pièces florales.

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE

1 - Analyse des germes de Pomme de terre de diverses variétés

La chromatographie en couche mince montre la présence de cinq glucoalcaloïdes, en quantités d'importance inégale, dont les Rf sont : 0,13 (traces), 0,24 (beaucoup), 0,29 (peu), 0,40 (peu), 0,90 (beaucoup).

Par les méthodes analytiques précédemment exposées, nous avons pu identifier la substance de Rf. : 0,24 à l' α -solanine et celle de Rf. : 0,90 à la solanidine.

2 - Analyse des différents organes de la Pomme de terre "KELTIA"

Par chromatographie en couche mince, nous avons observé, pour tous les organes six taches dont deux en quantité plus importante. Leurs Rf sont : 0,24 (beaucoup), 0,38 (beaucoup), 0,46 (traces), 0,60 (peu), 0,73 (peu), 0,80 (traces).

La substance de Rf 0,24 a été identifiée à de l' α -solanine, celle de Rf 0,38 possède les composants de l' α -chaconine, celle de Rf 0,60 et celle de Rf 0,73, ceux de la β -chaconine. Il s'agit probablement de la β_1 et de la β_2 -chaconine qui ne diffèrent que par l'enchaînement de leurs

deux oses, la β_1 -chaconine possédant la structure rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2) glucopyranose et la β_2 -chaconine la structure rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4)glucopyranose. Dans tous les extraits étudiés, ces glucoalcaloïdes sont qualitativement les mêmes et se trouvent sensiblement dans les mêmes proportions. Les variations quantitatives des glucoalcaloïdes de la Pomme de terre suivant les organes et les stades de végétation ne s'accompagnent donc pas de variations qualitatives.

Les résultats de ces deux expériences sont résumés sur la figure n° 44. Ils montrent que les différents clones de la Pomme de terre peuvent présenter une composition en glucoalcaloïdes différente.

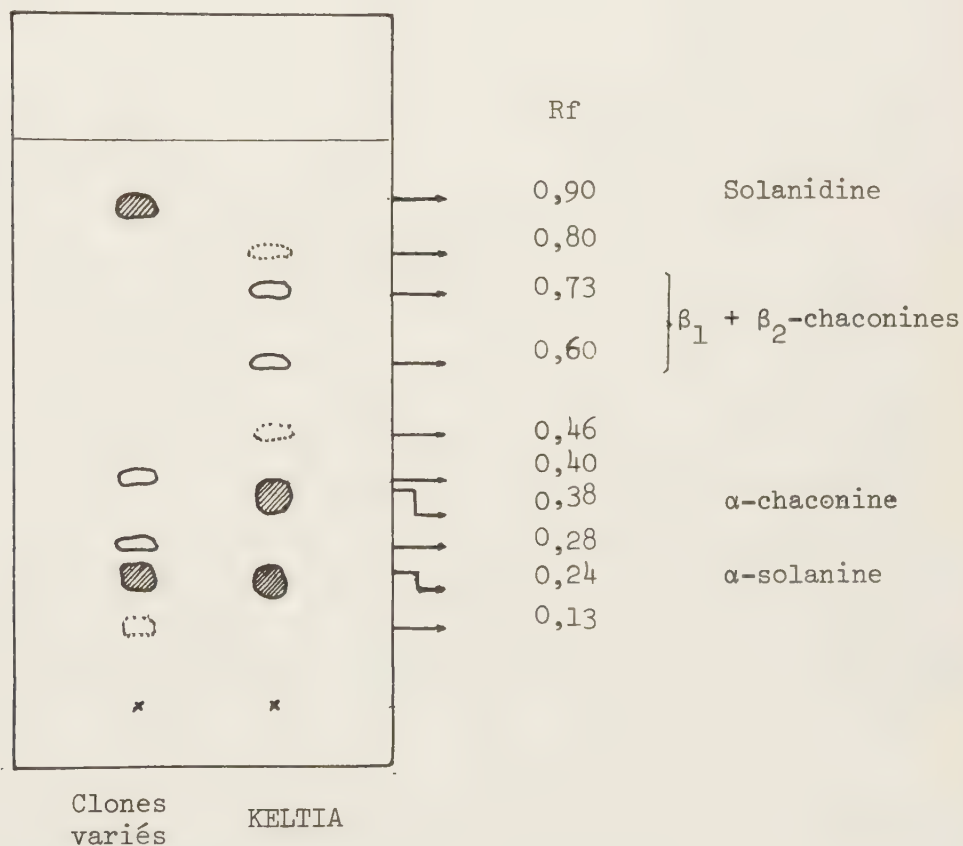


Figure n° 44

GLUCOALCALOIDES DE LA TOMATE <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.
--

Peu de glucoalcaloïdes ont été trouvés dans la Tomate (tableau n° XXVII). FONTAINE (104), en 1948, isola la tomatine des feuilles, puis SCHREIBER (299), la β_1 -tomatine, principal alcaloïde de certains mutants (290), et la démissine et la β_1 -démissine, également à partir de mutants (299) ; FAUCHER (97), décela par chromatographie, la présence de 5 glucoalcaloïdes mineurs à côté de la tomatine, sans pouvoir toutefois les identifier.

La β_1 -tomatine, la démissine, la β_1 -démissine de la Tomate n'ont jusqu'à présent, été décelées que dans les feuilles.

La tomatine a été trouvée dans les racines (337, 58), parfois à l'état de traces (376), quelquefois jusqu'à 0,6 % du poids sec (337). Elle apparaît dès que la radicelle perce l'enveloppe de la graine, sa concentration étant alors maximum au niveau de la zone méristématique apicale (261).

GLUCCALCALOIDES	AGLYCONES	OSSES
Tomatine	Tomatidine	D-xylose, 2D-glucoses, D-galactose
β_1 -Tomatine	Tomatidine	2D-glucoses, D-galactose
Démissine	Démissidine	D-xylose, 2D-glucoses, galactose
β_1 -Démissine	Démissidine	2D-glucoses, D-galactose

Tableau n° XXVII

Les tiges en contiennent également (337, 318, 258), à des taux variant de 0,04 à 0,85 % (318, 337, 97), le maximum étant à la période des fruits verts (97). Ce serait le lieu principal de sa formation.

La tomatine, dans les feuilles (104, 162, 108, 225,...), présente un taux maximum entre la formation du fruit et son début de mûrissement (162, 231, 225, 333, 376, 97, 337) ; on en trouve de 0,14 % à quelquefois 5 % (108, 231, 225, 333, 337, 97, 376).

La tomatine a également été rencontrée dans les fleurs (39) et dans les fruits verts (97, 154, 146), de l'état de traces à 0,087 % (146, 155, 376, 87) et parfois beaucoup plus (1,32 %) à l'époque où le pied porte également des fleurs et pas encore de fruits mûrs (97).

Elle disparaît dans les fruits mûrs où elle est métabolisée (258, 146, 97, 260,...). Cela est confirmé par la défloraison des plants qui provoque une augmentation de 110 % du taux de la tomatine dans les feuilles (257). Elle pourrait être, dans les fruits mûrs, un précurseur du lycopène (258 a, 86).

RESULTATS DE NOS ESSAIS

A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES

Nous avons analysé qualitativement et quantitativement les différents organes de la Tomate de la variété commerciale "la Nantaise", en fonction des stades de végétation.

Les plants achetés dans le commerce, ont été repiqués à AIGREFEUILLE (44) le 22 juin 1969, en exposition ensoleillée, en terre légère recouvrant du fumier de cheval frais ; celui-ci était surtout destiné à retenir l'humidité. Les tiges ont été tuteurées. En prévention des maladies cryptogamiques (Mildiou), les tiges ont été traversées par un fil de cuivre au-dessus du collet. Lors de la végétation, les pieds n'ont pas été pincés ; il n'a pas été nécessaire de les traiter.

Nous avons également étudié qualitativement les fruits verts de Tomates fournies par les "Maraîchers Nantais", dont nous ignorons la dénomination commerciale.

B - NATURE DES PRELEVEMENTS

Ils ont été effectués à quatre stades de la végétation :

- . avant la floraison (les plants tels qu'ils nous ont été vendus),
- . pendant la floraison,
- . à la période des fruits verts, accompagnés de fleurs,
- . à la période des fruits mûrs, accompagnés de quelques baies vertes.

Nous avons récolté suivant les périodes, racines, tiges, feuilles pétiolées, inflorescences, fruits verts et fruits mûrs (tableau n° XXVIII).

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE

Les pourcentages de glucoalcaloïdes totaux exprimés en tomatine par rapport au poids sec, sont présentés dans le tableau n° XXIX.

Ces résultats mettent en évidence que la plante est la plus riche lorsqu'elle porte des fruits verts et des fleurs ; celles-ci correspondent d'ailleurs, à cette période, aux organes de loin les plus riches ; ceci est à rapprocher du taux élevé des glucoalcaloïdes dans les fleurs de Pomme de terre.

EPOQUE	ORGANE	POIDS FRAIS	POIDS SEC
Plant 22/6/1969	Racines	20 g	8,0 g
	Tiges	50 g	4,0 g
	Feuilles	50 g	5,0 g
Floraison 21/7/1969	Racines	50 g	11,4 g
	Tiges	50 g	7,0 g
	Feuilles	50 g	8,0 g
	Fleurs	50 g	7,9 g
Fleurs et fruits verts 29/7/1969	Racines	35 g	12,3 g
	Tiges	50 g	9,0 g
	Feuilles	50 g	8,8 g
	Fleurs	5,5 g	1,1 g
	Fruits	50 g	4,9 g
fruits verts et fruits mûrs 27/8/1969	Racines	43 g	14,3 g
	Tiges	50 g	11,1 g
	Feuilles	50 g	11,1 g
	Fruits verts	53 g	7,4 g
	Fruits mûrs	50 g	6,2 g

Tableau n° XXVIII

ORGANE	E P O Q U E			
	PLANT	FLORAISON	FLEURS ET FRUITS VERTS	FRUITS VERTS ET FRUITS MURS
Racines	0,38	0,35	0,67	0,51
Tiges	0	0,20	0,17	0,38
Feuilles	0,33	0,45	0,78	0,32
Fleurs	-	0,15	2,90	-
Fruits verts	-	-	0,52	0,23
Fruits mûrs	-	-	-	0,08

Tableau n° XXIX

Les autres résultats sont en accord avec les données de la littérature ; la richesse des racines semble toutefois ne pas avoir été suffisamment mise en évidence.

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE

1 - Analyse des baies vertes de Tomate provenant des "Maraîchers Nantais"

Par chromatographie en couche mince, nous avons observé 3 spots de Rf : 0,24, 0,26 , 0,35 . La tache de Rf : 0,35 possède l'intensité la plus forte ; nous l'avons identifiée à la tomatine.

Par hydrolyse des glucoalcaloïdes totaux, nous avons obtenu trois substances de Rf : 0,48 , 0,67 et 0,80. Cette dernière correspond probablement à un produit de dégradation de la tomatine lors de l'hydrolyse (nous la retrouvons lors de l'hydrolyse de la tomatine pure, en proportion plus ou moins grande suivant les conditions opératoires). La tache de Rf : 0,67 a été identifiée à de la tomatidine ; celle de Rf : 0,48 qui possède en chromatographie gazeuse un temps de rétention relatif au cholestane de 6,38 est identique à la solasodine (Rf : 0,51 ; α_{AB} : 6,45).

Comme nous possédions suffisamment de matière première, nous avons extrait préparativement cette alcalamine selon la méthode décrite précédemment. La poudre microcristalline obtenue possède un point de fusion de 197° C (solasodine : environ 200° C) ; son spectre I.R. est superposable à celui de la solasodine.

C'est la première fois que cet aglycone est signalé dans la Tomate. Nous pensons qu'il se trouve dans la plante sous forme de solasonine, correspondant à la substance de Rf : 0,26 (solasonine : 0,26) mise en évidence par chromatographie en couche mince des glucoalcaloïdes.

2 - Analyse des différents organes de la Tomate "la Nantaise"

La chromatographie en couche mince des glucoalcaloïdes met en évidence jusqu'à huit taches. Leur répartition dans les différents organes est indiquée dans le tableau n° XXX.

EPOQUE	ORGANE	Rf							
		0,16	0,24	0,26	0,35	0,40	0,55	0,61	0,95
PLANT	Racines				++++				
	Tiges				++++				
	Feuilles				++++				
FLORAISON	Racines				++++				
	Tiges				++++				
	Feuilles			+	++++	++			
	Fleurs			+	++++				
FLEURS ET FRUITS VERTS	Racines	++	+	+	++++				
	Tiges	+			++++				
	Feuilles				++++				
	Fleurs				++++				
	Fruits verts		+		++++	++		+	
FRUITS VERTS ET FRUITS MURS	Racines	++			++++				
	Tiges	+	+	+	++++				
	Feuilles				+	++	++		+++
	Fruits verts				++++				
	Fruits mûrs				+				

Tableau n° XXX

Les intensités relatives des différentes taches d'un même extrait sont figurées par les symboles : ++++ = beaucoup ; +++ = assez ; ++ = peu ; + = traces.

La substance de Rf : 0,35 a été identifiée comme étant de la tomatine. Elle constitue la majeure partie des glucoalcaloïdes de la Tomate en toutes les saisons, excepté dans les feuilles lorsque la plante porte des fruits verts et des fruits mûrs ; elle ne figure alors qu'à l'état de traces à côté de trois substances de Rf : 0,40 - 0,55 et 0,95. La première de celles-ci est constituée de tomatidine liée à deux molécules de glucose et une de galactose ; cette composition est identique à celle de la β_1 -tomatine. La seconde possède le même aglycone combiné à une molécule de glucose et une de galactose ; ces composants sont ceux de la γ_1 -tomatine, glucoalcaloïde non trouvé jusqu'à présent à l'état naturel mais déjà obtenu par hydrolyse partielle de la tomatine (168). La substance de Rf : 0,95 se montre identique à la tomatidine. Il semble donc qu'il se produise une hydrolyse des glucoalcaloïdes dans la feuille à cette période de la végétation. Comme parallèlement on observe une diminution importante du taux de glucoalcaloïdes il est possible que cette hydrolyse s'accompagne d'une dégradation de la tomatidine.

La substance de Rf : 0,16 possède, comme la tomatine, 2 glucoses, 1 galactose et 1 xylose. Son aglycone n'a pas été identifié ; il possède les caractéristiques chromatographiques suivantes :

Rf : 0,15 (accompagné de traces possédant un Rf de 0,17) ;
 α_{AB} : 11,9 (accompagné de traces de α_{AB} : 12,5).

En chromatographie en couche mince, il n'est révélé par le trichlorure d'antimoine qu'après chauffage ; ceci laisse penser qu'il est probablement saturé en 5(6).

D'après cela et d'après la polarité qu'il montre en chromatographie nous pensons qu'il peut s'agir d'une hydroxytomatidine, comme celle isolée des racines de Douce-amère. C'est également dans les racines -et à l'état de traces dans les tiges- que l'on trouve ce principe dans la Tomate.

Les autres substances, présentes en trop petite quantité, n'ont pas été identifiées.

Les résultats de ces expériences sont résumés sur la figure n° 45.



Figure n° 45

GLUCOALCALOIDES DE LA MORELLE NOIRE

Solanum nigrum L.

Sous la dénomination "*Solanum nigrum* L.", les flores et les auteurs groupent certains *Solanum*, qu'ils considèrent être des variétés, que d'autres estiment être des espèces différentes. Dans notre étude, nous nous sommes limités aux variétés de *Solanum nigrum* L. décrites dans la flore de BONNIER (45) ; elles correspondent à la sous-espèce "*eunigrum*" de la flore de FOURNIER (106). Nous avons laissé de côté les sous-espèces "*miniatum* Bernh." et "*luteum* Mill." de ces flores.

En 1820, DESFOSSÉS (89, 90) isolait des baies de Morelle un principe qu'il nomma "solanine". Longtemps après, SCHREIBER (276), en 1957, mettait en évidence par chromatographie sur papier, six glucoalcaloïdes qu'il nomma α , β , γ , δ , ϵ et ξ -solanigrines. La γ , la δ et la ϵ -solanigrine devaient être

identifiées l'année suivante par SCHREIBER (279) et BOLL (38) comme étant respectivement la solasonine, la solamargine et le β -solamargine. Les autres glucoalcaloïdes sont demeurés non identifiés en raison de leur faible quantité (tableau n° XXXI).

GLUCOALCALOIDES	AGLYCONES	OSSES
α -Solanigrine	Solasodine ?	Tétraoside ? (279)
β -Solanigrine	Solasodine ?	2L-Rhamnoses, D-glucose, D-galactose ? (279)
Solasonine	Solasodine	L-Rhamnose, D-glucose, D-galactose
Solamargine	Solasodine	2L-Rhamnoses, D-glucose
β -Solamargine	Solasodine	L-Rhamnose, D-glucose
ξ -Solanigrine	Solasodine ?	D-Glucose, D-galactose ? (279)

Tableau n° XXXI

La répartition de ces glucoalcaloïdes dans les différents organes est indiquée dans le tableau n° XXXII. Nous avons précisé, lorsque possible, la variété botanique.

Les variétés *prostatum* F.Ger., *patulum* Willd. (=S. *Dillenii* Schultes), *flavum* Dunal (=S. *flavum* Schultes), *suffruticosum* Mons. n'ont pas été étudiées à notre connaissance.

On peut remarquer dans ce tableau que ce sont les baies vertes qui sont les plus riches en glucoalcaloïdes. Cependant, il existe une grande variabilité dans le taux de ceux-ci et les fruits de certaines origines peuvent en contenir très peu (245).

Comme dans les espèces étudiées précédemment, les glucoalcaloïdes disparaissent lors de la maturation du fruit.

PLANTE	ORGANE	TAUX DE GLUCOALCALOIDES ⁺	GLUCOALCALOIDES
Solanum nigrum L.	Racines	0 (360, 314)	Solasonine, solamargine, β -solamargine (279)
	Tiges	0 (314) 0,06-0,13 (97)	
	Feuilles	0 (314) 0,03-0,08(97)	
		0-1,1 (279)	Solasonine, solamargine (360, 279, 38, 35)
		0,3-2,9 (360)	β -solamargine (279, 35)
			α -, β -, ξ -solanigrines (279) (en faible quantité)
	Baies vertes	0,2 - 1,6 (279)	Solasonine, solamargine (97, 279, 314, 55)
		2,7 (252)	β -solamargine (314) (en fai- ble quantité)
		3,3 (97)	
		1,5 - 6,3(360)	
var. ochroleucum G.B. (= S. ochroleucum Bast.)	Feuilles	0 - 1 (279)	Solanosine, solamargine, β -solamargine (279, 35)
		0 - 0,007 (35)	
	Baies vertes	-	Solasonine, solamargine(279)
	Baies mûres	0 (279)	
var. chlorocarpum Spenn. (= S. luteovirens Gmel.)	-	0,006 (55)	Solasonine, solamargine(55) β -solamargine (Cf. 36)

Tableau n° XXXII

+ Le taux de glucoalcaloïdes est exprimé en solasonine, en pourcentage du poids sec.

RESULTATS DE NOS ESSAIS

A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES

Nous avons analysé :

. les parties aériennes portant des fleurs et des fruits verts d'une Morelle noire, provenant d'Aigrefeuille-sur-Maine (44), dont la variété n'a pas été déterminée ;

. les différents organes en fonction des stades de végétation d'une Morelle noire d'Aigrefeuille également ; celle-ci a été identifiée comme appartenant à la variété suffruticosum Mons., bien que BONNIER la localise dans le Midi de la France. Nous l'avons récoltée dans un champ de Pomme de terre ; lors de la floraison, elle était sévèrement parasitée par les larves de Doryphore.

B - NATURE DES PRELEVEMENTS

La Morelle de la deuxième origine a été récoltée à quatre stades de végétation :

- . avant la floraison,
- . en début de floraison,
- . à l'époque des fruits verts,
- . à l'époque des fruits mûrs, accompagnés de fruits commençant à mûrir.

Nous avons analysé, suivant les époques, les racines, les tiges, les feuilles pétiolées, les fleurs pédonculées, les fruits verts, mûrissants et mûrs, pédonculés également (tableau n° XXXIII).

EPOQUE	ORGANE	POIDS FRAIS	POIDS SEC
Avant la floraison 19/6/1970	Racines	45 g	14,2 g
	Tiges	50 g	2,5 g
	Feuilles	40 g	4,9 g
Floraison 25/6/1970	Racines	43 g	12,4 g
	Tiges	50 g	3,5 g
	Feuilles	50 g	5,7 g
	Fleurs	18,5 g	2,9 g
Fruits verts 27/7/1970	Racines	50 g	18,6 g
	Tiges	50 g	10,5 g
	Feuilles	50 g	9,8 g
	Fruits verts	50 g	10,0 g
Fruits mûrs et mûrissants 27/8/1970	Racines	50 g	18,2 g
	Tiges ⁺	50 g	9,9 g
	Feuilles	50 g	9,4 g
	Fruits verts ou mûrissants	50 g	10,0 g
	Fruits mûrs	50 g	10,5 g

Tableau n° XXXIII

+ Les tiges , à cette époque étaient lignifiées à 90 %

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE

Le taux des glucoalcaloïdes totaux exprimés en pourcentage de salsoline par rapport au poids sec est représenté dans le tableau n° XXXIV.

ORGANE	E P O Q U E			
	Avant Floraison	Floraison	Fruits verts	Fruits mûrs et mûrissants
Racines	0	0,02	0,04	0,03
Tiges	0	0	traces	traces
Feuilles	0,02	0,01	traces	traces
Fleurs	-	0,02	-	-
Fruits verts	-	-	1,15	-
Fruits mûrissants	-	-	-	1,15
Fruits mûrs	-	-	-	0,01

Tableau n° XXXIV

Seules, les baies vertes et au moment où elles commencent à mûrir sont riches en glucoalcaloïdes. On peut noter la présence, non encore observée, de traces de ces principes dans les racines et dans les fleurs.

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE

1 - Analyse des parties aériennes fleuries et portant des fruits verts, de la première origine

La chromatographie en couche mince montre cinq glucoalcaloïdes de Rf : 0,26 - 0,38 - 0,43 - 0,57 et 0,61.

La substance de Rf : 0,26 a été identifiée à la solasonine, celle de Rf : 0,38 à de l' α -solamargine et celle de Rf : 0,57 à la β -solamargine. Elles se trouvent en quantité équivalente dans l'extrait ; les deux autres sont présentes en moindre quantité ; elles possèdent respectivement les mêmes Rf que la β -et la γ -solamarine.

Par hydrolyse de l'extrait total, nous avons obtenu quatre substances de Rf 0,08 (peu), 0,51 (beaucoup), 0,67 (peu), et 0,71 (peu).

La première a été soumise de nouveau à l'hydrolyse ; cet essai a montré qu'elle correspondait à un produit d'hydrolyse incomplète des glucoalcaloïdes.

La seconde (Rf : 0,51) est identique à la solasodine et celle de Rf : 0,67 au tomatidénol (même Rf en chromatographie en couche mince et même temps de rétention relatif au cholestane en chromatographie gazeuse).

C'est la première fois que cet aglycone est signalé dans la Morelle. Il s'y trouve probablement à l'état de β -et de γ -solamarine dont la présence était envisagée plus haut.

La substance de Rf : 0,7 correspond au solasodiène, produit de déshydratation de la solasodine lors de l'hydrolyse. Elle apparaît en effet lors de l'hydrolyse de solasonine pure et donne une réaction de Rosenheim positive (coloration mauve donnée par les stéroïdes diéniques en présence d'acide trichloracétique en solution à 20 % dans le chloroforme).

2 - Analyse des différents organes de Solanum nigrum var. suffruticosum Mons.

La chromatographie en couche mince montre la présence de quatre substances au maximum, de Rf : 0,16 - 0,26 - 0,38 et 0,91.

La première et la dernière de celles-ci n'ont été rencontrées que dans les fruits mûrs à l'état de traces, accompagnées des deux autres en plus grande quantité. Celle de Rf : 0,16 pourrait correspondre à l' α - ou la β -solanigrine de SCHREIBER ; celle de Rf : 0,91 peut être de la solasodine. Nous n'avons pu l'identifier avec certitude étant donné la pauvreté de l'extrait. Les autres organes de la plante qui possèdent des glucoalcaloïdes, renferment de la solasonine (Rf : 0,26) et de l' α -solamargine (Rf : 0,38) en quantité sensiblement équivalente et quelque soit le stade de végétation. Nous n'avons

pas observé de substance dont le Rf correspond à celui de la β -solamarine.

L'hydrolyse des glucoalcaloïdes des fruits verts ne libère qu'un seul aglycone, la solasodine, accompagné de son produit de dégradation.

Les résultats de ces deux expériences sont résumés sur la figure suivante (figure n° 46).

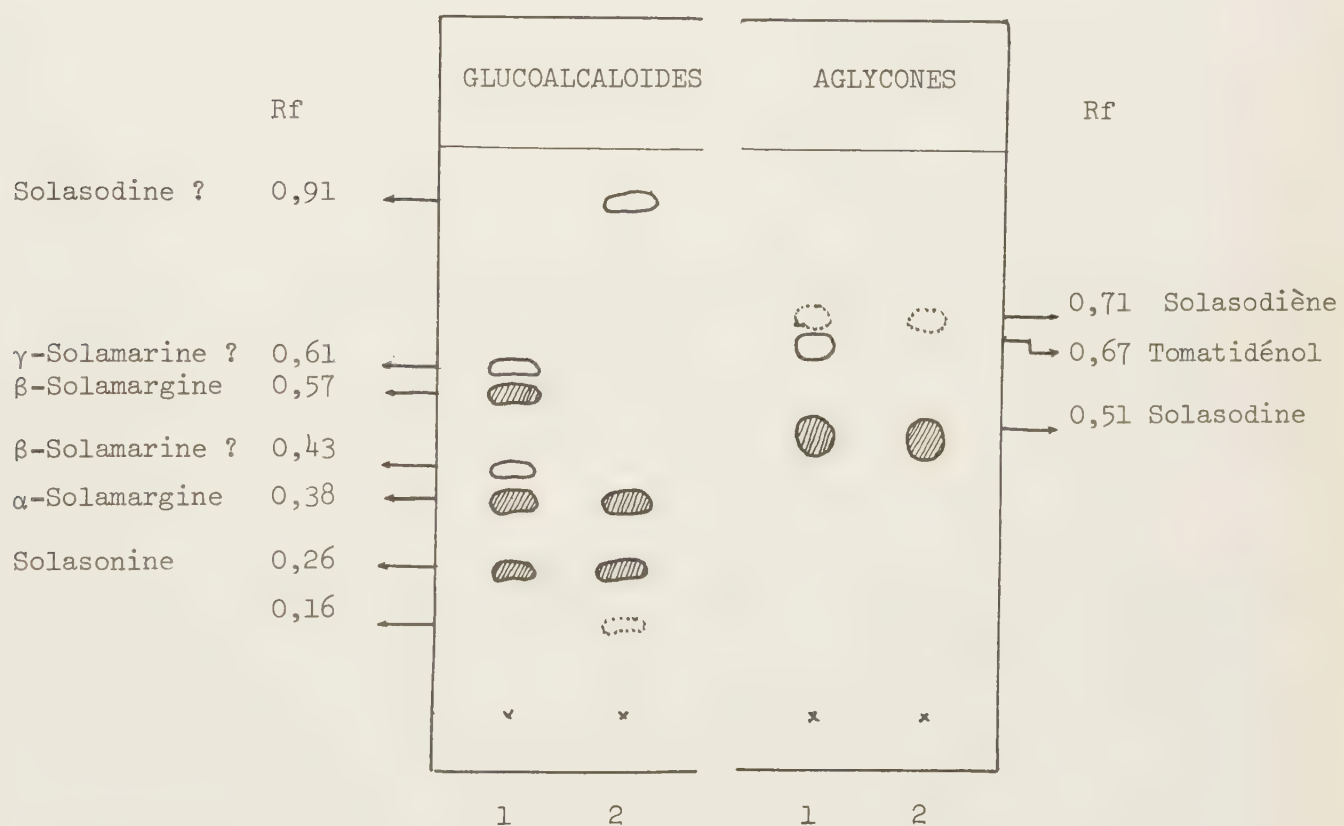


Figure n° 46

GLUCOALCALOIDES DE LA DOUCE-AMERE

Solanum dulcamara L.

(= *S.Scandens* Lam.)

DESFOSSÉS (90), en 1921, isola des baies et des feuilles de Douce-amère le même principe - la "solanine" - qu'il avait trouvé dans la Morelle. En 1912, MASSON (195) montra que cette substance était différente de la solanine de la Pomme de terre ; il la nomma "Solaceine" - TUSZON (340), en 1957, isola après hydrolyse un aglycone la soladulcidine, dont les hétérosides correspondants furent découverts par la suite : α -, β -, γ -soladulcine (278) et soladulcidine tétraoside (6). Dans le même temps, dans une Douce-amère exempte de soladulcidine, RASMUSSEN (205) trouvait la soladulcamarine dont l'aglycone fut identifié par la suite au tomatidénol (39). D'autres glucoalcaloïdes dérivant de ce génol furent découverts : α -, β -, γ -solamarine (39) ; la présence de glucoalcaloïdes dérivés de la solasodine fut également montrée (280, 39) et la solasonine et la solamargine mises en évidence (367, 250). RÖNSCH

(242, 244), en 1965, découvrit dans les racines de Douce-amère, la présence de nouvelles alcalamines : 15 α -hydroxysoladulcidine, 15 α -hydroxysolasodine, 15 α -hydroxytomatidéol, 15 α -hydroxytomatidine. Depuis, la 15 β -hydroxysoladulcidine, la 15 β -hydroxysolasodine, le 15 β -oxosoladulcidine (Cf. 308) et la tomatidine (246) devaient être mises en évidence.

Ces glucoalcaloïdes et leur répartition dans le végétal sont rassemblés dans les tableaux n° XXXV et n° XXXVI.

GLUCOALCALOÏDES	ALCAMINES	OSÉS
Soladulcidine tétraoïde	Soladulcidine	D-Xylose, 2D-glucoses, D-galactose
$\alpha + \beta + \gamma$ -Soladulcine	Soladulcidine	L-Rhamnose, D-xylose, D-glucose, D-galactose
Soladulcamarine	Tomatidéol	2L-Rhamnoses, L-arabinose, D-glucose
α -Solamarine	Tomatidéol	L-Rhamnose, D-glucose, D-galactose
β -Solamarine	Tomatidéol	2L-Rhamnoses, D-glucose
γ_1 et γ_2 -Solamarine	Tomatidéol	L-Rhamnose, D-glucose
Solasonine	Solasodine	L-Rhamnose, D-glucose, D-galactose
Solamargine	Solasodine Tomatidine 15 α -OH Tomatidine 15 α -OH Tomatidéol 15 α -OH Soladulcidine 15 α -OH Solasodine 15 β -OH Soladulcidine 15 β -OH Solasodine 15-Oxosoladulcidine	2L-Rhamnoses, D-glucose

Tableau n° XXXV

ORGANES	TAUX DE GLUCOALCALOIDES ⁺	GLUCOALCALOIDE (AGLYCONE)
Racines	-	(Solasodine, tomatidénol, 15 α -OH soladulcidine, 15 α -OH tomatidénol, 15 α -OH solasodine, 15 α -OH tomatidine) (244, 242) ; (soladulcidine, solasodine) (244); (15 β -OH soladulcidine, 15 β -OH solasodine, 15 - oxosoladulcidine) (Cf. 308); (tomatidine) (246).
Parties aériennes	0,02-1,45 (190)	α + β + γ -Soladulcine (278) ; soladulcidine tétraoside (259); α -solamarine, β -solamarine (39, 37) ; γ_2 -solamarine (39) ; solasonine (39, 37) ; solamargine (37).
Organes végétatifs	-	(Soladulcidine, solasodine, tomatidénol)(304); γ_1 et γ_2 -solamarine (243).
Tiges	0,17-1,32 (97) 0,07 (264)	(Tomatidénol, solasodine, soladulcidine)(345).
Feuilles	1,38-3,26 (97) 0,36-1,1 (264)	Soladulcamarine (205) ; α et β -solamarine (345) ; solasonine et solamargine (345, 369) ; (soladulcidine) (340, 246); (tomatidine) (246).
Fruits verts	1,9 (264) 3,8 (97) 1,5-4,2 (368)	Soladulcidine tétraoside (190) ; (tomatidénol)(369, 345, 368, Cf. 266) ; solasonine, solamargine (369).
Fruits mûrs	0 (97,259, 40) très peu (345)	Tomatidénol, solasodine, soladulcidine (345).

Tableau n° XXXVI

+ Pourcentage de glucoalcaloïdes exprimé en α -solamarine par rapport au poids sec.

Tous ces glucoalcaloïdes ne se rencontrent pas dans toutes les Douce-amères et cette variabilité fut montrée n'avoir aucune corrélation avec les fluctuations des caractères morphologiques ou les conditions écologiques de développement (266). De nombreux auteurs (280, 264, 304, 266, 374) supposèrent l'existence de trois races chimiques différentes, les races à soladulcidine, à solasodine et à tomatidénol. Cette hypothèse fut confirmée par WILLUHN (367) qui mit en évidence à partir de races pures à tomatidénol et à soladulcidine, la fixation génétique de la présence de ces substances dans les organes végétatifs. Des types intermédiaires entre ces races pures, comme les associations : tomatidénol - soladulcidine - solasodine, tomatidénol - solasodine, soladulcidine - solasodine⁺, peuvent exister, résultant probablement d'hybridations entre ces trois types principaux.

SANDER (266), BOGNAR (37) et ROZUMEK (250) ont remarqué qu'il existait une distribution approximative de ces races chimiques en Europe de chaque côté d'une ligne de démarcation Weser-Elbe, qui s'incurve ensuite vers le Sud-Est : à l'est de cette ligne, est surtout localisé le type soladulcidine et à l'ouest, le type tomatidénol. Il n'a jamais ainsi, été trouvé en France de Douce-amère contenant de la soladulcidine. Quant au type solasodine, il n'a été que rarement rencontré à l'état pur (369, 304, 250, 332) et sa localisation géographique est assez imprécise.

Lors de l'évolution physiologique de la plante, le taux des glucoalcaloïdes des tiges et des feuilles diminue jusqu'à la période des fruits (97). Ceux-ci, lorsqu'ils sont verts, sont les organes les plus riches de la plante (Cf. tableau n° XXXVI). WILLUHN (370) a montré qu'il n'y avait pas migration des glucoalcaloïdes des organes végétatifs vers les organes reproducteurs.

Dans les fruits, quelque soit la race chimique du pied considéré, on retrouve toujours de la solasodine en plus de l'alcaloïde caractérisant cette race (263, 40, 369, 266) : dans le type "tomatidénol", la solasodine se trouve à côté du tomatidénol, dans le type "soladulcidine", celle-ci

+ L'association tomatidénol-soladulcidine a été rencontrée dans certaines populations (37), mais son existence n'a pas été démontrée à l'échelle d'un individu ; elle est cependant probable.

accompagne également la solasodine et ce dernier principe se trouve seul dans le type "solasodine".

Lors de la croissance du fruit, le taux global en glucoalcaloïdes augmente ; le type caractéristique prédomine au début sur la solasodine, puis cette distribution est inversée (345, 368). Lors de la maturation, le taux des fruits diminue jusqu'à devenir pratiquement nul (263, 264, 259, 40, 345, 97, 266), la solasodine disparaissant plus vite que le tomatidénol ou la soladulcidine (54). Durant cette même période, il se produit une augmentation des glucoalcaloïdes dans les feuilles et dans les tiges (97) ; il n'y a cependant pas migration de ces substances des organes reproducteurs vers les organes végétatifs, mais destruction dans les fruits (97).

RESULTATS DE NOS ESSAIS

A - ORIGINE DE LA MATIERE PREMIERE

Nous avons récolté en fonction des stades de végétation les différents organes de la Douce-amère : *Solanum dulcamara* var. *laciniatum* (Dunal) sur un terrain vague en bords de Loire (quartier La Roche-Nantes (44)). La végétation avoisinante était surtout constituée de Prunelliers.

B - NATURE DES PRELEVEMENTS

Ils ont été effectués à cinq stades de végétation : avant la floraison, pendant la floraison, à l'époque des fruits verts, lors de la maturation des fruits et également pendant l'hiver.

Nous avons récolté les racines, les rhizomes, correspondant à des tiges secondairement recouvertes par un léger remblai, les tiges, les feuilles

pétiolées, les fleurs pédonculées, les fruits verts et les fruits mûrs également pédonculés (tableau n° XXXVII).

EPOQUE	ORGANE	POIDS FRAIS	POIDS SEC
Avant floraison 15.5.1970	Racines	48 g	14,8 g
	Rhizomes	50 g	18,9 g
	Tiges rameuses	50 g	17,0 g
	Tiges nouvelles	50 g	16,0 g
	Feuilles	50 g	10,9 g
Floraison 23.6.1969	Racines	36 g	17,7 g
	Rhizomes	50 g	15,7 g
	Tiges	50 g	11,3 g
	Feuilles	50 g	12,8 g
	Fleurs	50 g	9,7 g
Fruits verts 1.7.1969	Racines	50 g	18,9 g
	Rhizomes	50 g	16,9 g
	Tiges	50 g	14,8 g
	Feuilles	50 g	10,8 g
	Fruits verts	50 g	8,9 g
Fruits verts et mûrs 20.8.1969	Racines	17 g	7,8 g
	Tiges	50 g	17,2 g
	Feuilles	50 g	14,3 g
	Fruits verts	50 g	4,0 g
	Fruits mûrs	50 g	11,3 g
Hiver 19.1.1970	Racines	50 g	18,5 g
	Rhizomes	50 g	19,0 g
	Tiges	50 g	22,0 g

Tableau n° XXXVII

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE

Ils sont exprimés en pourcentage d' α -solamarine par rapport au poids sec (tableau n° XXXVIII).

ORGANE	EPOQUE				
	Avant floraison	Floraison	Fruits verts	Fruits verts et mûrs	Hiver
Racines	0,75	0,71	1,04	1,58	1,18
Rhizomes	2,27	1,73	1,04	-	1,24
Tiges	1,47(âgées) 0,55(nouvel- les)	0,21	0,20	0,66	0,96
Feuilles	3,89	0,59	0,46	1,25	-
Fleurs	-	0,27	-	-	-
Fruits verts	-	-	2	1,23	-
Fruits mûrs	-	-	-	0,81	-

Tableau n° XXXVIII

Certains résultats inscrits dans ce tableau sont conformes à la littérature, telles la richesse des fruits verts et la diminution du taux des glucoalcaloïdes dans les tiges et les feuilles jusqu'à la maturation du fruit. Les glucoalcaloïdes des racines suivent les mêmes fluctuations.

Nous pouvons également remarquer que :

- . les feuilles avant la floraison sont les organes les plus riches,
- . les rhizomes contiennent en général plus de glucoalcaloïdes que les racines et les tiges entre lesquelles ils sont placés⁺,
- . ces principes restent présents en grande proportion dans les organes pendant l'hiver,
- . les fruits mûrs contiennent une quantité encore appréciable de glucoalcaloïdes ; il est cependant possible qu'ils soient localisés dans les pédoncules et les sépales, la plupart des auteurs travaillant seulement sur les baies.

+ Nous avons déjà remarqué cela pour la Pomme de terre.

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE

La chromatographie en couche mince des extraits des différents organes de la Douce-amère en fonction des stades de végétation, met en évidence jusqu'à treize glucoalcaloïdes. Les Rf de ces substances et leur importance relative dans chaque extrait sont indiqués dans le tableau n° XXXIX.

Six glucoalcaloïdes ont été identifiés ; trois dérivent de la solasodine : la solasonine (Rf : 0,26), l' α -solamargine (Rf : 0,38) et la β -solamargine (Rf : 0,57) ; trois dérivent du tomatidénol : l' α -solamarine (Rf : 0,30), la β -solamarine (Rf : 0,43), la γ -solamarine (Rf : 0,61) sans toutefois pouvoir préciser pour cette dernière s'il s'agissait de la γ_1 ou de la γ_2 -solamarine. Les deux premières substances de ces deux groupes sont présentes en quantité importante dans tous les organes. Les dérivés du tomatidénol présomment parfois sur ceux de la solasodine et parfois inversement ; il est cependant difficile de tirer des déductions. On peut remarquer cependant la prédominance, déjà observée, de la solasodine sur le tomatidénol dans le fruit, lors de sa maturation.

La densité des taches et la présence de spauosides ne nous ont pas permis de déterminer l'identité des autres glucoalcaloïdes. Il est cependant possible de remarquer que la substance de Rf : 0,22 accompagne en général celle de Rf : 0,34, ce qui laisse penser que la seconde pourrait être un produit d'hydrolyse partielle de la première. Ces deux glucoalcaloïdes se répartissent surtout dans les racines, les rhizomes et les tiges.

La substance de Rf : 0,15 est toujours présente, quelquefois en quantité importante. Il pourrait s'agir d'après son Rf d'un tétraoside.

L'étude des aglycones totaux de différents extraits ne nous a pas été d'un grand secours.

Les organes ne contenant pas les glucoalcaloïdes de Rf : 0,22 et 0,34 montrent après hydrolyse six taches en chromatographie en couche mince

EPOQUE	ORGANES	Rf												
		0,24	0,22	0,26	0,30	0,34	0,38	0,43	0,48	0,52	0,57	0,61	0,75	0,78
Avant Floraison	Racines	+		+++	+++	++	+++	+++					++	
	Rhizomes	+++	+	+++	++	++	+++	+++	+	+			+	
	Tiges rameuses	++	+	+++	++	++	+++	+++	+	+				
	Tiges nouvelles	+		+++	+++		+++	+++						
	Feuilles	+	+	+++	+++	++	+++	+++	++	++				
Floraison	Racines	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+	+	++			
	Rhizomes	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	+	++	++	++		
	Tiges	+	++	+	+++	+	+	+++						
	Feuilles	+		+	+++		+	+++		++	++			
	Fleurs	+++		+++	+++		++	+++		++				
Fruits verts	Racines	++	+	+++	+++	+	+++	+++	+	+				
	Rhizomes	++	+	+++	++	+	+++	+++		+				
	Tiges	++		+	+++		+++	+++		+				
	Feuilles	++		+++	+++		+++	+++						
	Fruits verts	+		+++	+++		+++	+++	++	+				
Fruits verts et mûrs	Racines	++	+	+++	+++	++	+++	+++	+	+				
	Tiges	++	+	+++	+++	++	+++	+++						
	Feuilles	+++		+++	+++		+++	+++	++	++				
	Fruits verts	+++		+++	++		+++	+++	++	+	++			
	Fruits mûrs	++	++	+++	++		+++	+++	++					
Hiver	Racines	+	+	+++	+++	++	+++	+++	++	++			+	+
	Rhizomes	++	+	+++	+	+	+++	+	+	+				
	Tiges	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+	+				

Tableau n° XXXIX

Les intensités relatives des différentes taches d'un même extrait sont figurées par les symboles : ++++ = beaucoup, +++ = assez, ++ = peu, + = traces.

correspondant à la solasodine, au solasodiène, au tomatidénol, au tomatidiène et les deux autres (Rf : 0,10 et 0,24) à des produits d'hydrolyse incomplète.

Les extraits qui contiennent les substances de Rf : 0,22 et 0,34 semblent contenir en plus un aglycone de Rf : 0,32 ; sa faible concentration ne nous a pas permis d'étudier son comportement en chromatographie gazeuse. Peut-être pourrait-il s'agir d'un dérivé hydroxylé en C-15 du noyau tomatanine tels ceux que SCHREIBER a déjà mis en évidence dans les racines.

Les résultats de ces expériences sont résumés sur la figure n° 47.

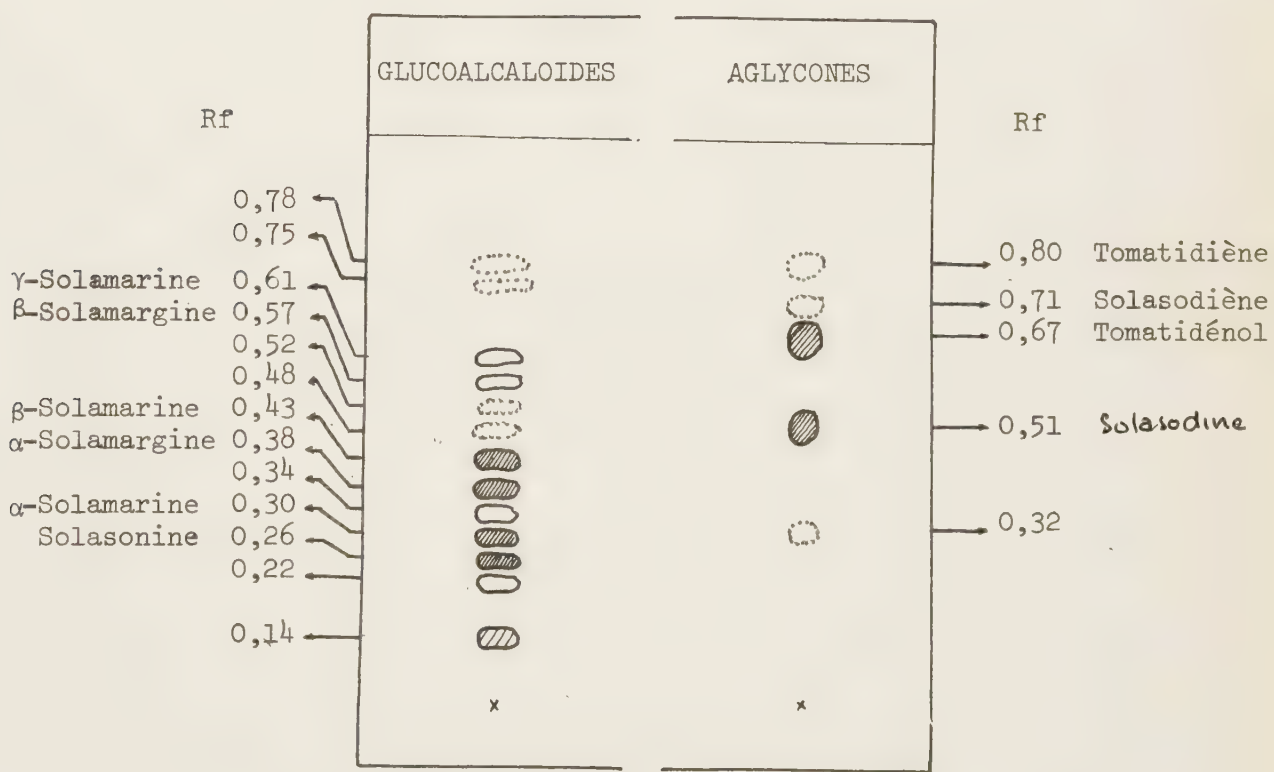


Figure n° 47

Cette Douce-amère s'est montrée riche en glucoalcaloïdes dérivés de la solasodine et du tomatidénol ; nous n'avons pas décelé la présence de soladulcidine. Ce résultat est conforme à la distribution européenne des races chimiques de Douce-amère.

M O D E S O P E R A T O I R E S

I - DETECTION DES GLUCOALCALOIDES ET DE LEURS AGLYCONES

a) Réaction au trichlorure d'antimoine

- Réactif : Sb Cl_3 à 20 % dans le chloroforme.
- Une goutte de l'extrait à analyser est déposée sur un morceau de papier à chromatographie. La pulvérisation du dépôt par le réactif suivie d'un séjour de cinq minutes à l'étuve à 110°C fait apparaître une coloration rouge en présence de glucoalcaloïdes ou de leurs aglycones.
- Sensibilité : $10 \mu\text{g} / \text{cm}^2$.

b) Réaction au bleu de bromophénol

- Réactif : B.B.P. à 0,1 % dans le chloroforme.
- La pulvérisation d'un dépôt identique par le réactif au B.B.P. provoque l'apparition d'une coloration bleue. L'excès de colorant fixé sur le papier, est enlevé par lavage dans une solution saturée de phosphate monopotassique, ce qui élimine également certaines colorations parasites.
- Sensibilité : $1 \mu\text{g} / \text{cm}^2$.

c) Séparation des glucoalcaloïdes et de leurs aglycones

- L'extrait sous forme solide obtenu, par exemple, par évaporation d'une solution à 60°C sous pression réduite, est épuisé au bain marie à 50°C par le chloroforme jusqu'à obtention d'une réaction négative au B.B.P.
- Les réactions colorées sont alors effectuées sur la solution chloroformique et sur une décoction du résidu dans l'éthanol à 80°C .

II - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES 5-ENES ET DE LEURS AGLYCONES -
REACTION DE CLARKE

- Réactif de CLARKE : - soluté officinal de HCHO 0,1 ml
- H₃PO₄ 100 ml

Alcool phosphorique : C₂H₅OH à 96° 1 ml
H₃PO₄ à 20 % dans l'eau distillée 1 ml

- L'extrait suffisamment purifié est évaporé dans une capsule de porcelaine au bain-marie à 60° C, sous courant d'azote. Le résidu est repris par 1 ml d'alcool phosphorique et, à la solution, sont ajoutés 10 ml de réactif de CLARKE. Il se développe en présence de glucoalcaloïdes 5-ènes et de leurs aglycones une coloration bleue en moins d'une demi-heure.

III - EXTRACTION ANALYTIQUE DES GLUCOALCALOIDES

50 g d'échantillon végétal frais sont jetés dans 100 ml d'éthanol à 96° bouillant contenant 1 g de carbonate de calcium; l'ébullition est maintenue une heure. L'extrait alcoolique encore chaud est filtré sur étamine. Le résidu de filtration est traité une seconde fois par 100 ml d'alcool à 80° à l'ébullition pendant une heure et ce second extrait est joint au premier après filtration. La plante est ensuite séchée à l'étuve à 60° C, pulvérisée et épuisée quantitativement dans un extracteur de KUMAGAWA par 100 ml d'alcool à 80°. Les liqueurs alcooliques réunies sont évaporées sous pression réduite à 50° C.

Le résidu, additionné d'un peu de sable, est trituré à trois reprises par 10 ml d'acide acétique à 5 %. Les solutions acides sont centrifugées puis filtrées sur verre fritté en présence de CLARCEL (adjuvant de filtration). Le résidu de centrifugation et le filtre sont rincés par quelques ml d'acide acétique à 5 %.

Les solutions acides sont réunies et alcalinisées par l'ammoniaque. Il se produit un précipité qui est aggloméré au bain-marie à 60° C, centrifugé, filtré sur CLARCEL et lavé par un peu d'ammoniaque à 5 %. Il est ensuite dissout dans du méthanol à l'ébullition.

La solution mère et les eaux de lavage qui contiennent encore des glucoalcaloïdes sont extraits quantitativement par l'alcool isoamylique (épuisements de 20 ml); l'émulsion qui se forme est rompue par centrifugation.

Les solutions méthanoliques et isoamyliques sont réunies et évaporées à sec sous pression réduite. Le résidu est repris par 100 ml de méthanol. Sur cette solution est effectuée l'analyse qualitative et le dosage des glucoalcaloïdes par la méthode de CLARKE.

Le dosage du B.B.P. demande une purification supplémentaire destinée à éliminer les sels ammoniacaux qui perturbent le dosage. Pour cela, 10 ml de solution alcoolique sont évaporés au bain-marie à 50° C sous azote dans une capsule de porcelaine et le résidu est lavé deux fois avec 1 ml d'ammoniaque à 5 %. La solution ammoniacale est filtrée sur clarcel et le résidu de la capsule et du filtre est repris par du méthanol bouillant. Sur la solution ajustée à 10 ml, est effectué le dosage au B.B.P.

IV - CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE DES GLUCOALCALOÏDES

a) Méthode analytique

- Préparation des plaques : une couche de gel de silice G MERCK de 0,25 mm d'épaisseur est étalée sur des plaques de verre (10 x 20 cm) selon la méthode de STAHL (321). Après dessiccation à la température ambiante, les plaques sont activées 1/2 heure à 110° C.

- Préparation du solvant :

- . CHCl_3 pour analyse : 120 ml
- . CH_3OH pour analyse : 120 ml
- . NH_4OH pour analyse en solution
à 1% dans de l'eau distillée : 60 ml

Les solvants sont mélangés dans une ampoule à décantier. Après un repos d'une demi-heure, la phase organique inférieure est soutirée. Elle peut être utilisée extemporanément ou après conservation dans un flacon bouchant à l'émeri.

- Dépôt et développement : 10 μl d'une solution méthanolique de glucoalcaloïdes sont déposés à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque la surface du dépôt étant de 20 à 30 mm^2 .

La hauteur du solvant dans la cuve est fixée à 0,5 cm. La saturation de l'atmosphère est effectuée à l'aide d'une bande de papier à chromatographie imprégnée de solvant et repliée le long des parois; le temps de saturation est de 1/4 d'heure.

L'inclinaison de la plaque dans la cuve est voisine de 15° avec la verticale; le développement est de 15 cm, il demande environ cinquante minutes.

- Révélation : Elle s'effectue après évaporation des solvants imprégnant l'adsorbant par un séjour de cinq minutes à l'étuve ventilée à 110°C . On utilise :

- . le réactif DRAGENDORFF, préparé selon MUNIER et MACHE-BOEUF (207); la pulvérisation doit être effectuée après avoir laissé séjourner la plaque 1/4 d'heure dans des vapeurs d'acide chlorhydrique; après chauffage de cinq minutes à 110°C , les spots apparaissent en brun sur fond blanc;

- . le trichlorure d'antimoine, en solution à 20 % dans le chloroforme; contrairement aux dérivés 5-ènes, les dérivés 5 α saturés ne sont révélés qu'après chauffage de cinq minutes à l'étuve à 110°C ; les spots apparaissent colorés en rouge;

. le réactif au p-anisaldéhyde, préparé en ajoutant à 50 ml de solution à 1 % de p-anisaldéhyde dans l'acide acétique, 1 ml d'acide sulfurique; ce révélateur doit être préparé extemporanément; les spots apparaissent après un chauffage de cinq minutes à 110° C; les colorations varient énormément avec l'âge du réactif, la durée du chauffage; nous avons obtenu, en général, les colorations suivantes :

Squelette	Aglycones	Glucoalcaloïdes
Tomatanine	bleu turquoise	vert
Tomat-5-ène	bleu ardoise	bleu ardoise
Solanidanine	bleu violet	
Solanid-5-ène	bleu violet	bleu violacé
Spirostane (saponosides)	jaune verdâtre	jaune verdâtre

b) Méthode semi-préparative

Dans cette méthode dérivée de la précédente, le dépôt est effectué en ligne de 3 cm sur plaque de gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur, à l'aide du "Chromatocharger CAMAG". Après migration, les glucoalcaloïdes sont révélés, par pulvérisation bilatérale du chromatogramme par le trichlorure d'antimoine et leur localisation est complétée par observation sous lumière U.V. Les zones non révélées correspondant à chaque tache sont grattées, et éluées par un peu de méthanol à l'ébullition. Cette solution est filtrée sur verre fritté n° 3, puis évaporée à 60° C sous un courant d'azote.

Le résidu est habituellement hydrolysé dans le but d'identifier les composants du glucoalcaloïde. Dans ce cas, et lorsque l'hydrolyse est prévue en milieu aqueux, il est nécessaire d'effectuer un dépôt correspondant à 0,25 mg de chaque glucoalcaloïde. Une quantité supérieure est toutefois préférable si l'on désire soumettre l'aglycone libéré à plusieurs critères d'identification.

V - HYDROLYSE DES GLUCOALCALOÏDES

a) Dans le but d'identifier seulement le ou les aglycones libérés

- Méthanol chlorhydrique : CH_3OH : 88 ml
HCl : 12 ml

- Les glucoalcaloïdes sont dissous dans une ampoule de 2 ml par le minimum de méthanol chlorhydrique. L'ampoule, scellée, est mise à séjourner trois heures à l'étuve à 60° C, puis l'hydrolysate est additionné de trois fois son volume d'eau distillée.

Le chlorhydrate d'aglycone précipite; il est séparé par centrifugation et redissous dans le minimum de méthanol à 70 %. La solution est alcalinisée par de l'ammoniaque dilué au quart jusqu'à pH 10, puis évaporée sous azote à 60° C; le résidu contenant les aglycones peut être analysé.

b) Dans le but d'identifier l'aglycone et les sucres libérés

L'hydrolyse est effectuée selon le même processus par de l'acide chlorhydrique dilué (H_2O -HCl, 88 : 12) à 90° C.

Le chlorhydrate d'aglycone insoluble dans l'eau précipite spontanément; il est séparé par centrifugation et traité comme précédemment.

Le surnageant qui contient les oses, est transvasé dans une autre ampoule et neutralisé par du carbonate d'argent. Le précipité de chlorure d'argent est centrifugé, puis lavé par un peu d'eau distillée qui est jointe au surnageant. La solution sucrée peut être concentrée sous vide sur CaCl_2 avant analyse.

VI - SEPARATION DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE

- Préparation des plaques de gel de silice MERCK : identique à M.O. 3.

- Solvant : CHCl_3 pour analyse : 90 ml
 CH_3OH pour analyse : 10 ml

Il peut être utilisé extemporanément ou après conservation.

- Dépôt : environ 0,1 mg.
- Longueur de développement : 15 cm.
- Durée de migration : environ 35 minutes.
- Révélation identique à celle des glucoalcaloïdes.

VII - SEPARATION DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE

a) Préparation des dérivés acétylés

0,4 mg de substance desséchée sur P_2O_5 sous vide pendant 48 h est solubilisé dans un mélange de pyridine (conservée sur KOH) - anhydride acétique (conservé sur CaCl_2) (1 : 5) - La réaction est effectuée à 60° C en ampoule scellée durant 1 h 30; la solution est ensuite évaporée à l'étuve à 60° C sous courant d'azote sec; le résidu peut être chromatographié après dissolution.

b) Préparation des dérivés triméthylsilylés

1 mg d'aglycone desséché 48 h sous vide phosphorique est additionné d'1 ml de BSA (A.S.L.) et laissé en ampoule scellée 1 h 30 à la température ordinaire. La solution est ensuite évaporée à 50° C sous un courant d'azote sec. Le résidu peut être chromatographié après dissolution.

Il est préférable d'effectuer la transformation extemporanément; cependant, nous avons pu conserver des solutions dans le sulfure de carbone sous vide phosphorique à $- 30^{\circ} \text{C}$. Il est nécessaire dans ce cas de laisser la solution se réchauffer avant injection.

c) Fractionnement des alcanamines sur QF1

- Appareil : VARIAN AEROGRAPH 1520 équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme. Un tube de pyrex de 1/8 inch de diamètre a été introduit dans la chambre d'injection.

- Gaz vecteur : azote R (AIR LIQUIDE) desséché sur tamis moléculaire. La pression de tête a toujours été de 4 bars.

- Colonnes en acier inoxydable (Inox "super" AEROGRAPH)

- . diamètre intérieur : 1/8 inch,
- . longueur : 6 feet,
- . support solide : VARAPORT 30 (= AEROPAK 30) 80/100,
- . phase stationnaire : 2 % de QF1.

Les colonnes ont été conditionnées 24 heures sous un débit d'azote de 20 ml/mn à 230°C .

- Les alcanamines sont chromatographiées, sans dérivation, après dissolution dans du sulfure de carbone pour analyse conservé sur CaCl_2 .

- Paramètres : température de la colonne : 225°C ,
température de l'injecteur et du détecteur : 275°C ,
débit : 30 ml/mn.

VIII - COUPLAGE DE LA CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE AVEC LA CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE

La chromatographie en couche mince des aglycones est conduite selon M.O. 5 en effectuant un dépôt en ligne de 3 cm, à l'aide du "Chromatocharger CAMAG". Après migration, les alcalamines sont localisées en pulvérisant deux petites bandes latérales par le réactif au trichlorure d'antimoine, puis la partie intermédiaire non révélée de chaque "tache" est éluée par du méthanol à l'ébullition; cette solution méthanolique est ensuite filtrée sur verre filtré n° 3 puis évaporée sous azote à 60° C. Le résidu est repris par le minimum de sulfure de carbone et injecté dans l'appareil à chromatographie gazeuse. Cette méthode est applicable pour un dépôt initial de 25 µg de chaque aglycone.

IX - RECHERCHES DES CETOSES DANS UN HYDROLYSAT

- Réactif : 0,3 g de 5,5-diméthylcyclohexane 1,3-dione (dimédone) sont dissous dans 80 ml d'éthanol; à cette solution est ajouté 10 ml d'acide phosphorique.

- Une tache de l'hydrolysat est déposée sur une plaque de silicagel et pulvérisée après dessiccation par le révélateur. Un chauffage de 3 minutes à 110° C fait apparaître une coloration jaune en présence de cétooses. Les aldoses ne donnent rien et ne gênent pas la révélation dans le cas d'un mélange.

X - SEPARATION ET EVALUATION SEMIQUANTITATIVE DES OSES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE

- Support : plaques finies MERCK de gel de silice G (0,25 mm),
5 x 20 cm.

- Dépôt : en bande de 2 cm, à l'aide du "Chromatocharger CAMAG"

- Solvant : n butanol pour analyse 90 ml
pyridine pour analyse 50 ml
eau distillée 20 ml

La hauteur du solvant dans la cuve (6 x 23 cm) est de 0,5 cm;
la saturation est de 1/4 d'heure.

- Développement : la plaque est placée verticalement dans la
cuve; la migration est de 10 cm; elle demande 2 h 30.

- Révélateur : α -naphtol 0,25 g
éthanol 50 ml
 H_2SO_4 à 20 % 50 ml ;

La révélation s'effectue sur la plaque desséchée à l'étuve
à 105° C, par immersion durant cinq secondes; la coloration apparaît
après un chauffage de 10 minutes à cette même température.

- Evaluation semi-quantitative : à l'aide du photomètre enre-
gistreur intégrateur VERNON TRD5, employé selon le mode réflexion, sans
filtre, pour une largeur de fente "n° 3", et une longueur de 25 mm.

XI - METHODES DE DOSAGE DES GLUCOALCALOIDES

Les solutions extractives doivent être évaporées sous azote
à 60° C, car nous avons remarqué que les évaporations à l'air libre
produisent des pertes de l'ordre de 8 à 18 %.

a) Méthode colorimétrique de CLARKE

- Réactifs :

. Alcool phosphorique : alcool à 96° 5 ml
 H_3PO_4 à 20% dans l'eau distillée 5 ml

. Réactif de CLARKE : Soluté officinal de HCHO 0,1 ml
 H_3PO_4 pour analyse 100 ml

- Spectrophomètre UV Jean et Constant,

- Evaporer 1 ml de solution de glucoalcaloïdes (environ 10^{-3}M) dans deux capsules de porcelaine. Dissoudre les résidus dans 1 ml d'alcool phosphorique; verser 10 ml d'éthanol dans la capsule qui servira de blanc et 10 ml de réactif de CLARKE dans l'autre capsule. Laisser la coloration se développer 1/2 heure à la température ordinaire et à la lumière. Evaluer l'intensité de la coloration à 601 m μ ; se reporter à une courbe étalon transcrivant les densités optiques en taux de glucoalcaloïdes exprimé en solanine pour la Pomme de terre, en solasonine pour la Morelle et en α -solamarine pour la Douce-amère.

b) Méthode volumétrique au bleu de bromophénol

Les solutions extractives ne doivent pas contenir de sels ammoniacaux qui apportent au dosage une erreur importante.

- Réactifs :

. Solvant de GYENES (127) : phénol pour analyse 20 g
 CCl_4 pour analyse 100 ml;

les deux composants doivent être distillés préalablement.

. Solution de bleu de bromophénol 10^{-3}M dans le solvant de GYENES (0,0670 g pour 100 ml).

-Evaporer 0,5 ml de solution de glucoalcaloïdes (environ $0,5 \cdot 10^{-3}\text{M}$) dans un petit tube en pyrex (les capsules de porcelaine semblent adsorber sur leurs parois une partie du B.B.P.). Le mettre à des sécher une nuit sous vide sur chlorure de calcium. Reprendre le résidu par 1 ml de solvant de GYENES. Titrer par la solution de B.B.P. le plus rapidement possible, le terme du dosage étant indiqué par le virage de la coloration du bleu au jaune.

Pour des solutions plus concentrées en glucoalcaloïdes, il est nécessaire de reprendre le résidu par une quantité plus importante de solvant de GYENES afin d'éviter l'apparition d'un précipité lors du dosage. Cependant, nous avons remarqué qu'il fallait éviter d'effectuer une trop grande dilution sous peine d'obtenir des résultats erronés par défaut.

XII - EXTRAIT SEC ET POIDS SEC

Les poids secs sont déterminés sur 10 g de matière première par gravimétrie à poids constant à l'étuve à 105°-110° C.

Les extraits secs sont déterminés sur des solutions contenant au moins 50 mg de substance par gravimétrie à poids constant à l'étuve à 50° C sous vide.

XIII - PREPARATION DES GLUCOALCALOÏDES BRUTS

La plante fraîche est broyée le plus rapidement possible dans 2 à 3 fois son poids d'acide acétique à 5 %, de manière à obtenir un pH voisin de 3,5 puis est laissée macérer 24 h dans un endroit frais, en agitant de temps en temps. La solution est ensuite filtrée sur étamine, puis centrifugée.

L'extrait est alcalinisé par l'ammoniaque concentré jusqu'à pH 9 et le précipité obtenu est aggloméré par chauffage à 70° C. Le précipité, gélatineux, est séparé par centrifugation. Le gel est alors soumis à une suite de congélations et de décongélations qui séparent un liquide exempt de glucoalcaloïdes. Il est ensuite desséché à la température ambiante au dessiccateur sulfurique et pulvérisé.

XIV - PREPARATION DES GLUCOALCALOIDES PURIFIES

- Préparation de l'échangeur

Introduire 30 ml d'Amberlite IRA 401 (Cl) dans un percolateur. Laver l'échangeur par 500 ml d'eau distillée bouillante, puis par 500 ml d'eau distillée bouillie. Faire passer une solution de soude à 4 % dans l'eau distillée bouillie jusqu'à absence de chlorures dans l'éluat. Laver de nouveau la colonne à l'eau distillée bouillie jusqu'à neutralité de l'éluat puis par 500 ml de méthanol. L'échangeur se trouve alors sous la forme (OH).

- Purification

Porter environ 30 g d'extrait brut à l'ébullition 1/2 heure dans deux litres de méthanol sous réfrigérant à reflux. Centrifuger et rincer le résidu par un peu de méthanol chaud.

Faire passer la solution méthanolique sur l'amberlite IRA 401 (OH), puis rincer la colonne jusqu'à absence de glucoalcaloïdes dans l'éluat.

Concentrer la solution à sec à 50° C sous pression réduite. Dissoudre le résidu dans le minimum de pyridine et précipiter les glucoalcaloïdes par quinze volumes d'éther. Recueillir le précipité, évaporer les eaux mères et recommencer cette précipitation. Dessécher les précipités réunis, sous vide sulfurique.

XV - SEPARATION PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DES GLUCOALCALOIDES DE LA POMME DE TERRE ET DE LA TOMATE

- . Colonne : 40 x 4 cm
- . Adsorbant : Alumine neutre MERCK (activité II-III)

- . Solvant : CHCl_3 - CH_3OH - NH_4OH 1 % 2 : 2 : 1
- . Eluant : CHCl_3 - CH_3OH - NH_4OH 1 % 2 : 2 : 1
- . Fractions : de 15 ml recueillies sur un collecteur de fractions SEIVE.

. Révélation : les fractions contenant des glucoalcaloïdes sont identifiées à l'aide du B.B.P. Leur composition est déterminée par chromatographie en couche mince.

. Récupération des glucoalcaloïdes : par concentration sous pression réduite à 50° C des fractions de compositions identiques, jusqu'à 50 ml, centrifugation (traces d'alumine), et concentration à sec.

XVI - FRACTIONNEMENT DES GLUCOALCALOÏDES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE PREPARATIVE.

- Plaques : 20 x 20 cm

Adsorbant : silicagel PF 254 MERCK pour chromatographie en couche mince préparative.

Préparation des plaques : par étalement sur 6 plaques, de 60 g de gel de silice délayés dans 140 ml d'eau distillée, sur une épaisseur de 0,50 mm. La dessiccation demande 12 h à la température ordinaire et l'activation 3 h 30 à 110° C.

- Quantité déposée : 10 à 15 mg de substance par plaque à l'aide du "Chromatocharger CAMAG".

- Solvants : Ils varient selon les glucoalcaloïdes à fractionner (Cf. Chapitre III).

- Révélation : les révélateurs sont identiques à ceux utilisés pour la chromatographie analytique. La révélation est effectuée bilatéralement; elle est complétée par observation sous U.V. où les glucoalcaloïdes sont légèrement fluorescents.

- Elution : les zones non révélées sont grattées et éluées à deux reprises par du méthanol à l'ébullition (100 ml pour 30 g de poudre) sous réfrigérant à reflux. Après centrifugation et filtration sur verre fritté n° 3 pour éliminer les particules de silice restantes, la solution méthanolique est évaporée sous pression réduite à 40° C.

XVII - CRISTALLISATION DES GLUCOALCALOIDES

a) Cristallisation de la solanine et des dérivés de la tomatanine combinés à deux sucres.

Les glucoalcaloïdes sont dissous dans du méthanol à 70 %. Après évaporation partielle à l'air libre ou au dessicateur à chlorure de calcium, ils cristallisent dans la solution d'où ils sont récupérés par centrifugation. Les cristaux sont lavés plusieurs fois par du méthanol à 30 % et recristallisés jusqu'à point de fusion constant.

b) Cristallisation de la tomatine.

Elle s'effectue par refroidissement d'une solution méthanolique saturée. Les cristaux sont lavés et recristallisés comme précédemment.

XVIII - HYDROLYSE PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES

Dissoudre les glucoalcaloïdes dans le minimum de méthanol chlorhydrique (88 : 12).

Porter la solution au bain-marie 3 heures à 65° C sous réfrigérant à reflux.

Concentrer à 60° C sous pression réduite jusqu'à la moitié du volume de départ et ramener au volume initial avec de l'eau distillée; le chlorhydrate d'alcamine précipite.

Solubiliser le précipité dans le minimum de méthanol à 70 % et ajouter de l'ammoniaque jusqu'à début net de précipitation.

Isoler les aglycones par centrifugation.

Evaporer la solution mère à 60° C sous pression réduite; dissoudre le résidu dans le minimum de méthanol à 70 % et ajouter de nouveau de l'ammoniaque jusqu'à précipitation.

Joindre les précipités et les dessécher au dessicateur sulfurique.

XIX - FRACTIONNEMENT DES AGLYCONES DE LA TOMATE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE.

- Colonne : 30 x 3 cm
- Adsorbant : alumine neutre MERCK (activité I)
- Solvant : benzène
- Eluant : benzène-méthanol (9 : 1)
- Fractions recueillies : 5 ml
- Révélation : identique à celle utilisée lors de la chromatographie sur colonne des glucoalcaloïdes.
- Récupération des alcamines : par évaporation sous pression réduite à 50° C des fractions de composition identique après centrifugation (traces d'alumine).

XX - FRACTIONNEMENT DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE
PREPARATIVE.

- La préparation des plaques est identique à celle utilisée pour le fractionnement des glucoalcaloïdes (M.O. 16).

- Quantité déposée : 20 à 30 mg de substance par plaque, à l'aide du "Chromatocharger CAMAG".

- Solvant : CHCl_3 90 ml
 CH_3OH 10 ml

- Révélation : identique à celle utilisée pour les glucoalcaloïdes (M.O. 16).

- Elution : identique à celle des glucoalcaloïdes (M.O. 16).

XXI - CRISTALLISATION DES AGLYCONES.

Dissoudre l'aglycone dans le minimum de méthanol à l'ébullition. Filtrer si besoin sur verre fritté n° 4 et ajouter à la solution encore chaude 1 fois 1/2 son volume d'eau distillée alcalinisée par l'ammoniaque. Laisser cristalliser 12 heures à la température ordinaire. Les microcristaux sont centrifugés, lavés par un peu de méthanol à 40 % et séchés sous vide sulfurique. La cristallisation est répétée jusqu'à point de fusion constant.

N.B. - Les microcristaux peuvent être également lavés avec profit à l'acétone. Cette purification occasionne cependant des pertes importantes.

CONCLUSION

Le but de notre travail était d'étudier la composition en glucoalcaloïdes des Solanacées de la région nantaise, ainsi que ses variations en fonction des organes et des stades de végétation.

Pour cela, il était nécessaire de mettre au point :

- une méthode d'extraction de ces principes afin de pouvoir procéder à des identifications analytiques par analogie,
- une méthode analytique qualitative permettant de différencier ces substances qui sont souvent stéréoisomères ou qui ne diffèrent que par la présence ou l'absence d'une double liaison.

Les déterminations quantitatives ont été effectuées selon une méthode protométrique déjà en usage dans notre laboratoire (Bleu de bromophénol) et selon une méthode colorimétrique (CLARKE) d'utilisation très répandue.

Nous avons étudiés les principaux glucoalcaloïdes de quatre Solanacées :

- la Pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.),
- la Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.),
- la Morelle (*Solanum nigrum* L.),
- la Douce-amère (*Solanum dulcamara* L.).

Leur extraction peut se schématiser en cinq étapes :

- l'obtention des glucoalcaloïdes bruts,
- la purification de ce totum,
- le fractionnement des glucoalcaloïdes purs,
- leur cristallisation et leur identification.

La matière première ainsi que chaque stade a été analysée qualitativement et quantitativement.

Nous avons préparé le totum glucoalcaloïdique brut par le procédé classique qui consiste à extraire ces substances à l'état d'acétates, puis à les précipiter par l'ammoniaque. Suivant les matières premières, nous avons obtenu un rendement en glucoalcaloïdes de 47 à 93 %. Ils représentent 14 à 41 % du poids du totum brut.

La première difficulté de la purification de cet extrait a été l'élimination de la chlorophylle dont la présence peut être attribuée à un phénomène d'hydrotropie due aux glucoalcaloïdes ou à des saponosides. Nous avons fait passer pour cela, l'extrait méthanolique de glucoalcaloïdes bruts sur un échangeur d'anions, l'Amberlite IRA 401 (OH), qui a retenu la totalité de la chlorophylle présente. L'extrait obtenu montre encore une coloration jaune qui a pu être éliminée en précipitant par l'éther, les glucoalcaloïdes mis en solution dans la pyridine. Suivant les matières premières, le rendement en glucoalcaloïdes a été de 56 à 63 %; ils représentent 61 à 95 % du poids du totum purifié.

Le fractionnement des glucoalcaloïdes purifiés a essentiellement été effectué par chromatographie en couche mince préparative sur gel de silice. Cette méthode présente l'avantage de permettre une très

bonne visualisation du développement. Les principaux solvants employés ont été l'acétate d'éthyle - pyridine - eau (3 : 1 : 3), le chloroforme méthanol - ammoniacal à 1 % (2 : 2 : 1) et le chloroforme - méthanol (6 : 2 et 6 : 2,5). Il a été nécessaire, dans le cas de la Douce-amère, d'effectuer plusieurs fractionnements successifs pour séparer certains glucoalcaloïdes de structure extrêmement voisine. Nous avons isolé deux substances de la Pomme de terre, une de la Tomate, trois de la Morelle et six de la Douce-amère.

La cristallisation des glucoalcaloïdes s'est révélée difficile car ils ont tendance à former des gels avec les solvants polaires. Elle a été effectuée à partir de solutions méthanoliques par refroidissement ou par diminution du degré alcoolique. Deux principes de la Morelle et quatre de la Douce-amère n'ont cependant pu être cristallisés.

L'identification des glucoalcaloïdes ainsi isolés a surtout été basée sur la nature des composants, aglycones et sucres, qu'ils libèrent par hydrolyse. Pour ceux obtenus à l'état cristallisé, nous avons en outre déterminé leur point de fusion et effectué leur analyse élémentaire. Nous avons identifié les principes extraits.

- . de la Pomme de terre, à l' α -solanine et à la solanidine,
- . de la Tomate, à la tomatine,
- . de la Morelle, à la solasonine, l' α - et la β -solamargine,
- . de la Douce-amère, également à la solasonine, l' α - et la β -solamargine, et à l' α -, la β - et la γ_2 -solamarine.

L'hydrolyse du totum glucoalcaloïdique purifié permet de préparer les aglycones. Ils se trouvent alors quelquefois en mélange (Douce-amère) et toujours souillés de produits de déshydratation. Nous les avons isolés par chromatographie en couche mince préparative sur gel de silice à l'aide du chloroforme-méthanol (9 : 1). Cette méthode n'est cependant pas universelle, car ce solvant n'aurait pas permis de séparer des aglycones ne différant que par une double liaison .

Les aglycones obtenus ont été cristallisés dans le méthanol / eau. Ils ont été identifiés par leur analyse élémentaire, leur point de fusion, leur pouvoir rotatoire, leur spectre I.R., leur comportement en

chromatographie en couche mince et en chromatographie gazeuse par rapport à des témoins; leur insaturation en 5 (6) a été recherchée à l'aide du réactif de CLARKE. Nous avons identifié à partir de

- . la Pomme de terre, la solanidine,
- . la Tomate, la tomatidine,
- . la Morelle, la solasodine,
- . la Douce-amère, la solasodine et le tomatidénol.

Comme nous ne possédions pas de témoins pour ce dernier aglycone, son identité a été, en plus, confirmée par son hydrogénation en tomatidine.

Les méthodes d'analyse qualitative que nous avons utilisées relèvent de la chromatographie. L'identification des glucoalcaloïdes présents dans un extrait de composition inconnue a été basée sur la suite d'opérations suivantes :

- Chromatographie en couche mince des glucoalcaloïdes, de l'extrait purifié.

- Elution et hydrolyse de chaque glucoalcaloïde.

- Analyse de l'aglycone libéré par chromatographie en couche mince, puis son élution et son analyse par chromatographie gazeuse.

- Analyse semi-quantitative des sucres libérés par chromatographie en couche mince.

La chromatographie en couche mince des glucoalcaloïdes a été effectuée dans le chloroforme - méthanol - ammoniacque à 1 % (2 : 2 : 1). Ce solvant de très haute résolution nous a permis de séparer des glucoalcaloïdes possédant des aglycones stéréoisomères, combinés à une même chaîne osidique. Les glucoalcaloïdes ont été révélés sur le chromatogramme à l'aide du p. anisaldéhyde. La valeur des R_f nous a donné une indication sur la longueur de la chaîne osidique; la présence de témoins a permis de suspecter ou de rejeter l'identité d'une des substances du chromatogramme avec l'un de ceux-ci.

Après hydrolyse, la chromatographie en couche mince des aglycones correspondant à chaque glucoalcaloïde, a été effectuée dans le chloroforme - méthanol (9 : 1). La comparaison du Rf obtenu à ceux des témoins permet d'envisager la nature de l'alcamine. Ce solvant ne fractionne pas cependant les aglycones qui ne diffèrent que par leur insaturation en 5 (6).

L'identification de l'alcamine (aglycone) mise en évidence par chromatographie en couche mince, est complétée après élution par chromatographie gazeuse sur QF 1 à 225° C, sans transformation préalable. Cette technique permet de différencier, entre autres, les alcamines non fractionnées par chromatographie en couche mince.

Les oses libérés par hydrolyse ont été identifiés par chromatographie en couche mince sur gel de silice à l'aide du n-butanol - pyridine - eau (9 : 5 : 2). Ce solvant permet de séparer les principaux sucres rencontrés à l'état naturel sous forme d'hétérosides. La proportion de chaque ose dans le mélange a été déterminée par densitométrie, après révélation par l' α -naphthol.

La concordance de ces critères permet de déterminer, avec une grande probabilité, l'identité d'un glucoalcaloïde. Lorsque nous avons possédé suffisamment de matière première, nous avons, en plus, procédé à l'extraction de la substance, lorsque sa présence était inhabituelle dans la plante considérée, afin d'en assurer l'identification par ses constantes physiques (α_D , F) et son spectre I.R.

Les analyses que nous avons effectuées sur la Pomme de terre "KELTIA" ont confirmé la diminution temporaire du taux des glucoalcaloïdes dans les feuilles au moment de la floraison. Les germes se sont montrés, contrairement à ce qui était attendu, relativement pauvres, et les tubercules extrêmement riches au moment de la germination (0,8 % du poids sec, en solanine). Les rhizomes et surtout les fleurs étaient également très riches.

Qualitativement, les différents clones peuvent présenter des compositions différentes : nous avons observé que des germes de certaines Pommes de terre contenaient de la solanine et de la solanidine, tandis que d'autres ("KELTIA") renfermaient de la solanine, de l' α - et de la β -chaconine. Nous n'avons remarqué aucune variation qualitative de la composition des différents organes en fonction des stades de végétation.

Nos expériences sur la Tomate "La NANTAISE" ont confirmé le taux élevé de glucoalcaloïdes dans les feuilles et les fruits verts et sa diminution dans les fruits murs. Nous avons également remarqué la pauvreté des fleurs au moment de la floraison et leur richesse à la "période des fruits verts", ainsi que la richesse des racines.

Qualitativement, nous avons observé la présence de tomatine et parfois, celle de β_1 - et de γ_1 -tomatine et de tomatidine. Nous avons remarqué une hydrolyse des glucoalcaloïdes dans les feuilles à "l'époque des fruits mûrs" et surtout la présence dans les racines et un peu dans les tiges, au moment de la fructification, d'un glucoalcaloïde présentant les mêmes oses que la tomatine, mais dont l'aglycone, saturé, est plus polaire. Nous nous réservons d'étudier prochainement la structure de ce glucoalcaloïde.

Dans les fruits verts d'une autre variété commerciale de tomate, nous avons mis en évidence la solasodine non encore signalée dans cette plante. Nous pensons que cet alcalamine se trouve sous forme de solasonine.

Les analyses que nous avons effectuées sur la Morelle noire (var. *suffruticosum* Mons.) ont confirmé la pauvreté de cette plante en glucoalcaloïdes. Seuls, les fruits verts en contiennent beaucoup et ils disparaissent dans les fruits mûrs.

L'analyse qualitative de cette variété et d'une autre source de Morelle nous a montré qu'il pouvait se trouver des différences de

composition : la deuxième source contenait en plus des dérivés de la solasodine présents dans la première (α -solasonine, α et β -solamargine) des dérivés du tomatidénol. C'est la première fois que cet aglycone est signalé dans cette plante; nous pensons qu'il se trouve combiné sous forme d' β -et de γ -solamarine.

Les expériences que nous avons effectuées sur la Douce-amère (var. laciniatum Dunal) ont confirmé la richesse des feuilles et des fruits verts, la diminution temporaire du taux des glucoalcaloïdes dans les organes végétatifs, jusqu'à la fructification, leur disparition dans les fruits mûrs et leur présence en quantité appréciable dans les tiges pendant l'hiver. Les rhizomes renfermaient, de plus, un taux élevé, comme dans le cas de la Pomme de terre, tandis que celui des fleurs était faible.

Qualitativement, nous avons mis en évidence treize glucoalcaloïdes dont six, seulement, présents habituellement, ont été identifiés : l' α -solasonine, l' α - et la β -solamargine, l' α -, la β - et la γ -solamarine. Ceux-ci dérivent de la solasodine ou du tomatidénol, la première alcalamine semblant prédominer sur la seconde lors de la maturation du fruit.

Deux autres glucoalcaloïdes, en proportion appréciable, semblent dériver l'un de l'autre par hydrolyse partielle; ils pourraient posséder un aglycone plus polaire que ceux précités. Ils se localisent principalement dans les racines, les rhizomes et les tiges. Un autre glucoalcaloïde, toujours présent, pourrait correspondre à un tétraoside. Nous comptons poursuivre l'étude de ces glucoalcaloïdes.

Il importe de signaler que nous n'avons pas mis en évidence la présence de dérivés de la soladulcidine; ceci est conforme à l'hypothèse d'une distribution est-ouest des races chimiques de Douce-amère, en Europe. Nous ne pouvons cependant pas préciser si la matière première que nous avons étudiée correspondait à une race pure ou à un mélange de races à solasodine et à tomatidénol.

Nous comptons poursuivre ce travail en approfondissant les incertitudes et les inconnues soulevées en particulier à propos des glucoalcaloïdes de la Tomate et de la Douce-amère.

Les techniques d'extraction et d'analyse que nous avons mises au point doivent nous permettre d'élargir notre étude à d'autres Solanacées indigènes (*Solanum melongena* L., *Solanum pseudocapsicum* L.,...)

B I B L I O G R A P H I E

- 1) ADAM G., SCHREIBER K. - Z. Chem., (1963), 3, 100
- 2) ADAM G., SCHREIBER K. - Tetrahedron, (1966), 22, 3591
- 3) ADAM G., SCHREIBER K., TOMKO J., VASSOVA A. - Tetrahedron, (1967),
23, 167
- 4) ADAM G., SCHREIBER K., TOMKO J. - Lieb. Ann. Chem., (1967), 707, 23
- 5) ALBO G. - Contribuzioni Alle Biol. Veg., (1899), 2, 193
- 6) ALKEMEYER M., SANDER H. - Naturwiss, (1959), 46, 207
- 7) ALBERTI B. - Z. Unters. Lebensmittel, (1932), 64, 260
- 8) ANDERS M.W., MANNERING G.J. - Anal. Chem., (1962), 34, 730
- 9) ANDERSON, BRIGGS L.H. - J. Chem. Soc., (1937), 1036
- 10) APPEL H.H., BRANES B. - Scientia, (1967), 34, 27
- 11) ARNOLD W. - Pharmazie, (1950), 5, 490
- 12) ARNOLD J.E., FALES H.M. - J. Gas Chrom., (1965), 3, 131
- 13) ARUTYUNYAN L.A. - Voprosy Pitaniya, (1940), 9, 30
Chem. Zentr., (1941), 1, 1750
- 14) ASLANOV K.A., KASYMOV T.K., SADIKOV A.S. - Uzbesk. Khim. Zh., (1963),
7, 35
- 15) BAERUG R. - Eur. Potato J., (1962), 5, 42
- 16) BAKER L.C., LAMPITT L.H., MEDERITH O.B. - I. Sci. Food Agr., (1955),
6, 197

- 17) BALKAR-SKRZYDLEWSKA E., ZALECKA M. - Biul. Inst. Roslin Leczniczych,
(1964), 10, 159
- 18) BALKAR-SKRZYDLEWSKA E., ZALECKA M. - Biul. Inst. Roslin Leczniczych,
(1964), 10, 172
- 19) BAUMANN H. - Arch. Pharm., (1843), 34, 158
- 20) BAUP M. - Ann. Chim., (1826), 31, 108
- 21) BELL R.C., BRIGGS L.H. - J. Chem. Soc., (1942), 1
- 22) BELL R.C., BRIGGS L.H., CAROLL J.J. - J. Chem. Soc., (1942), 12, 16
- 23) BELL D.J., TALUKDER M.Q.K. - J. Chrom., (1970), 49, 469
- 24) BIANCHI E., DIAZ F., GARBARINO J.A. - Gazz. Chim. Ital., (1960),
90, 894
- 25) BIANCHI E., DIAZ F., CHARLIN M. - Atti. Accad. Naz. Lincei. Rend.
Class. Sci. Fis. Nat. Nat., (1960), 11, 465
- 26) BIANCHI E., DJESSARI C., BUDZIKIEWICZ H., SATO Y. - J. Org. Chem.,
(1965), 30, 754
- 27) BIRNER J. - J. Pharm. Sci., (1969), 58, 258
- 28) BITE P., JOKAY L., PONGRACZ-STERK L. - Acta Chim. Acad. Sci. Hung.,
(1962), 34, 363
- 29) BITE P., MAGO E., RETTEGI T., USKERT A. - Hung., 155,441 (Cl.C07c)
23 déc. 1968, Appl. 26 avr. 1965
- 30) BITE P., SHABANA M.M., JOKAY L., PONGRACZ-STERK L. - Magy. Kem.
Foly., (1969), 75, 544
- 31) BITE P., MAGÓ-KARÁCSONY E., RETTEGI T., USKERT A. - Acta Chim. Sci.
Hung., (1970), 64, 199

- 32) BODEA C., CIUDARU V., INDREA D. - Rev. Chem., (1963), 14, 398
- 33) BOGNAR R., MAKLEIT S. - Pharmazie, (1956), 11, 376
- 34) BOGNAR R., MAKLEIT S. - Tagungsber. Deut. Akad. Landwirtschaftswiss.
Berlin, (1961), 27, 87
- 35) BOGNAR R., MAKLEIT S. - Magy. Kem. Foly., (1962), 68, 432
- 36) BOGNAR R., MAKLEIT S. - Pharmazie, (1965), 20, 40
- 37) BOGNAR R., MAKLEIT S. - Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., (1965), 46, 205
- 38) BOLL P.M. - Acta Chem. Scand., (1958), 12, 358
- 39) BOLL P.M. - Acta Chem. Scand., (1962), 16, 1819
- 40) BOLL P.M., ANDERSEN B. - Planta Med., (1962), 10, 421
- 41) BOLL P.M. - Acta Chem. Scand., (1963), 17, 1852
- 42) BOLL P.M. - Acta Chem. Scand., (1963), 17, 2126
- 43) BOMER A., MATTIS H. - Z. Unters. Nahr Genussm., (1923), 45, 288
- 44) BOMER A., MATTIS H. - Z. Unters. Nahr Genussm., (1924), 47, 97
- 45) BONNIER G. - Flore complète de France, Suisse et Belgique.
Libr. Gen. de l'enseign., Paris.
- 46) BOSC A. - Th. Pharm. Montpellier, (1876)
- 47) BRAUN H. - Beitr. Agrarwiss., (1948), 2, 61
- 48) BRIGGS L.H. - J. Am. Chem. Soc., (1937), 2467
- 49) BRIGGS L.H. - J. Chem. Soc., (1937), 59, 1404

- 50) BRIGGS L.H., NEWBOLD R.P., STACE N.E. - J. Chem. Soc., (1942), 3
- 51) BRIGGS L.H., O'SHEA T. - J. Chem. Soc., (1952), 1654
- 52) BRIGGS L.H., BROOKER E.G., HARVEY W.E., ODELL A.L. - J. Chem. Soc.,
(1952), 3587
- 53) BRIGGS L.H., BROOKER E.G. - J. Chem. Soc., (1958), 1419
- 54) BRIGGS L.H., CAMBIE R.C. - J. Chem. Soc., (1958), 1422
- 55) BRIGGS L.H., CAMBIE R.C., HOAPE J.L. - J. Chem. Soc., (1961), 4645
- 56) BRIGGS L.H. - Tagungsber. Deut. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin,
(1961), 27, 37
- 57) BRIGGS L.H., CAMBIE R.C., HOAPE J.L. - J. Chem. Soc., (1963), 2848
- 58) BRINK N.G., FOLKER K. - J. Am. Chem. Soc., (1951), 73, 4018
- 59) BROCHMANN-HANSEN E., SVENDSEN A.B. - J. of Pharm. Sci., (1962),
51, 1095
- 60) BROCHMANN-HANSEN E., SVENDSEN A.B. - J. of Pharm. Sci., (1963),
52, 1134
- 61) BROCHMANN-HANSEN E. - J. Chrom., (1965), 19, 269
- 62) BROOKS C.J.W., HANAINEH L., Mc CORMICK A., STEEL G., YOUNG J.S. -
Chrom. Gaz. Horm. Ster., Ed. Dunod (1968), 75
- 63) BROWNIE A.C., VAN DER MOLEN H.J., MISHIZAWA E.E. - J. Clin. Endocrinol.
Metab., (1964), 24, 1091
- 64) BRUNEL A. - Tr. Prat. Chimie Veg., Ed. Georges Frères, (1948)
- 65) BRUTKO - Khim. Prip. Soedin, (1966), 2, 442

- 83) CORREIRA ALVES A., PRISTA L.N., FERREIRA M.A. - Garcia Orta.,
(1961), 9, 713
- 84) COX R.I., PETERSONS D.A. - Gas. Chrom. Horm. Ster., Ed. Dunod,
(1968), 346
- 85) CREANGA E., MUSETESCU I. - Pharmazie, (1968), 23, 724
- 86) CZYGAN V.F.C., WILLUHN G. - Planta Med., (1967), 15, 404
- 87) DAJANI R.M., KOUYOUMJIAN C., HARRISON M. - Leban. Pharm. J., (1967),
9, 110
- 88) DENOEL A. - Planta Med. et Phyt., (1968), 2, 153
- 89) DESFOSSES M. - J. de Pharm., (1820), 6, 374
- 90) DESFOSSES M. - J. de Pharm., (1821), 7, 414
- 91) DIJKSTRA N.D., REESTMAN A.J. - Landbouwkund. Tijdschr., (1943),
53, 191; Chem. Zentr., (1943), 2, 189
- 92) DRAY F., WELIKY I. - Chrom. Gaz. Horm. Ster., Ed. Dunod (1968), 105
- 93) DROSTE - Pharm. Zentr., (1915), 56, 311
- 94) DUCET G., SEMERES S. - Ann. Agron., (1957), annexe II, 141
- 95) EABORN C., THOMA B.S., HOLDER C.A. - J. Chem. Soc., (1969), 18, 2502
- 96) FAUCHER A., MONNET R. - Bull. Soc. Pharm. Ouest, (1961), 4, 107
- 97) FAUCHER A. - Thèse Pharm., Nantes (1965)
- 98) FAYEZ M.B.E., SALEH A.A. - Acta Chim. Acad. Sci. Hung., (1968),
53, 303
- 99) FAYEZ M.B.E., SALEH A.A. - Z. Anal. Chem., (1969), 246, 380

- 100) FELLENGER T.V. - Mitt. Lebensm. Hyg., (1940), 31, 237
- 101) FERENCZY L., SHABANA M., BITE P. - Magy. Kem. Foly., (1970), 76, 240
- 102) FIRBAS R., MONATSH F. - Chem., (1899), 10, 541
- 103) FISH F., WILSON W.D.C. - J. Chrom., (1969), 40, 164
- 104) FONTAINE T.D., IRWING G.W. - Arch. Biochem., (1948), 18, 467
- 105) FONTAINE T.D., SCHAFFER P.S. - US. Dept. Agr. Res. Serv., (1955),
ARS 13
- 106) FOURNIER P. - Les quatre flores de France, Ed. Lechevalier. Paris
(1961)
- 107) FUSCO D. - Bull. Chim. Farm., (1941), 80, 211
- 108) GALINOVSKY F., WAGNER A. - Nonatsch, (1951), 82, 1123
- 109) GALLI A., SOMMERVILLE I.F. - Gas Chrom. Horm. Ster., Ed. Dunod,
Paris, (1968), 64
- 110) GARBUTT J.L. - J. Chrom., (1964), 15, 90
- 111) GAWECKI K., ILECKI J. - Roczniki Nauk Rolniczych, Ser. B., (1966),
87, 337
- 112) GEHRKE C.W., STALLING P.L. - Sep. Sci., (1967), 2, 101
- 113) GEHRKE C.W., NAKATOMO H., ZUMWAL R.W. - J. Chrom., (1969), 45, 24
- 114) GLEISPACH H. - Z. Anal. Chem., (1968), 243, 294
- 115) GORIS A. - Thèse pour agrégation de Pharm. (1914)
- 116) GRAFF J., WEIN J.P., WINITZ M. - Feder. Proc., (1963), 22, 244

- 117) GRIEBEL G. - Zeitschr. Untersucht. Nahr. Genussm., (1924), 47, 436
- 118) GROB K. - J. Gas. Chrom., (1964), 2, 80
- 119) GRUNWALD C. - J. Chrom., (1969), 44, 173
- 120) GRUNWALD C. - Anal. Biochem., (1970), 34, 16
- 121) GUILLOUX E., BEAUGIRAUD S. - Bull. Soc. Chim. Fr., (1965), 261
- 122) GULL D.D., ISENBERG F.M. - Prom. Am. Hort. Sci., (1960), 75, 545
- 123) GUPTA M.P., DUTT S. - J. Ind. Chem. Soc., (1938), 15, 95
- 124) GUSEVA A.R., PASESHNICHENKO V.A. - Biokhimiya, (1957), 22, 843
- 125) GUSEVA A.R., PASESHNICHENKO V.A. - Biokhimiya, (1959), 24, 563
- 126) GUSEVA A.R., PASESHNICHENKO V.A., BORIKHINA M.G., MOISEEV R.K. -
Biokhimiya, (1965), 30, 260
- 127) GYENES I. - D. Akad. Landwirt. Z. Berlin, (1959), 27, 177
- 128) HARBORNE J.A., SCHERATT H.S.A. - Experientia, (1957), 13, 486
- 129) HARTMAN I.S., WOTIZ H.H. - Steroids, (1963), 1, 33
- 130) HAY G.W., LEWIS B.A., SMITH F. - J. Chrom., (1963), 11, 479
- 131) HAYNES L.J., SEAFORTH C.F. - J. Chem. Soc., (1963), 745
- 132) HEIDUSCHKA A., SIEGER H. - Arch. Pharm., (1917), 225, 18
- 133) HEFTMANN E. - Llyodia, (1967), 30, 209
- 134) HEGNAUER R. - Chemotax. Pflanzen. Vol.3 - Birkhäuser, Basel (1964)
- 135) HILTON R.J. - Sci. Agr., (1951), 31, 61

- 136) HILTON R.J., GAMBORG O.L. - Can. J. Plant. Sci., (1957), 37, 407
- 137) HÖHNE E., SCHREIBER K., RIPPERGER H., WORCH H.H. - Tetrahedron, (1966), 22, 673
- 138) HÖHNE E., RIPPERGER H., SCHREIBER K. - Tetrahedron, (1967), 23, 3705
- 139) HORNING E.C., BROOKS C.J.W., VAN DEN HEUVEL W.J.A. - Adv. Lipid. Res., (1968), 6, 273
- 140) ISMAILOV - Dokl. Akad. Nauk. Azerb., (1967), 23, 47
- 141) JACIN H., MISHKIN A.R. - J. Chrom., (1965), 18, 170
- 142) JELIFFE R.W., BLANKENHORN D.H. - Circul., (1962), 26, 737
- 143) JONES G.E.S., TURNER D., SARLOS I.J., BARNES A.C., COHEN R. - Fertil. Steril., (1962), 13, 544
- 144) JORISSEN A., GROSJEAN L. - Acad. Roy. des Sci. de Belg. Bull., (1890), 19, 245
- 145) KACZMARCK F., SZOSTOAK H. - Herba Pol., (1966), 11, 24
- 146) KAJDEROWICZ - JAROSINSKA D. - Acta Agr. Sylv. Serroln., (1965), 5, 3
- 147) KAMINSKY L. - Acta Chim. Acad. Sci. Hung., (1962), 33, 467
- 148) KAWASAKI T., YAMAUCHI T. - Chem. Pharm. Bull (Tokyo), (1962), 10, 703
- 149) KAWASAKI T., MIYAHARA K. - Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), (1963), 11, 1546
- 150) KENNARDO, RIVA DI SANSEVERINO L., ROLLET J.S. - J. Chem. Soc., (1967), C, 959
- 151) KIRSCHNER M.A., LIPSETT M.B. - Steroids, (1964), 3, 277

- 152) KLOHS M.W., DRAPER M.D., KELLER F., MALESH W., PETRACEK F.J. -
J. Am. Chem. Soc., (1953), 75, 2133
- 153) KNIGHTS B.A. - J. Gas. Chrom., (1964), 2, 338
- 154) KOLANKIEWICZ J., MLODECKI H., SZYMCZYK F. - Roczniki Panst. Zaktadu
Hig., (1954), 5, 214
- 155) KOLANKIEWICZ J., MLODECKI H., SZYMCZYK F. - Roczniki Panst. Zaktadu
Hig., (1956), 7, 537
- 156) KRAUSS J. - Am. J. Pharm., (1891), 65, 211
- 157) KRINGSTAD K. - Acta Chem. Scand., (1964), 18, 2399
- 158) KROMER W., VOLKSEN - Die Ernährung, (1950), 9
- 159) KUHN R., LÖW I. - Chem. Ber., (1947), 80, 406
- 160) KUHN R., LÖW I. - Z. Naturforsch., (1947), 2b, 407
- 161) KUHN R., LÖW I. - Chem. Ber., (1948), 81, 552
- 162) KUHN R., LÖW I., GAUHEA - Chem. Ber., (1950), 83, 448
- 163) KUHN R., LÖW I., TRISCHMANN H. - Chem. Ber., (1952), 85, 416
- 164) KUHN R., LÖW I. - Angew. Chem., (1954), 66, 639
- 164a) KUHN R., LÖW I. - Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. AII, (1955), 60,
488
- 165) KUHN R., LÖW I. - Chem. Ber., (1955), 88, 289
- 166) KUHN R., LÖW I. - Chem. Ber., (1955), 88, 1492
- 167) KUHN R., LÖW I., TRISCHMANN H. - Chem. Ber., (1955), 88, 1690

- 168) KUHN R., LÖW I., TRISCHMANN H. - Chem. Ber., (1957), 90, 203
- 169) KUHN R., LÖW I. - Angew. Chem., (1957), 69, 236
- 170) KUHN R., LÖW I. - Chem. Ber., (1961), 94, 1088
- 171) KUHN R., LÖW I. - Tagungsber Deut. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin, (1961), 27, 7
- 172) LABENSKI A.S., GERASIMENKO I.I., UTKIN L.M. - Zhur. Obshehei. Khim. (1958), 28, 3120
- 173) LABENSKI A.S. - Zhur. Obshehei. Khim., (1960), 30, 335
- 174) LABENSKI A.S., KORETKALA I.I. - Med. Prom. SSSR., (1961), 15, 41
- 175) LABENSKI A.S., KUSOVKOVA R.I. - Med. Prom. SSSR., (1965), 19, 35
- 176) LABENSKI A.S., ZEIFMAN V.I. - Br. URSS., (1965), n° 144853/12, 08
- 177) LANDAULT C., GUIOCHON G., GANANSIA J. - Bull. Soc. Chim. Fr., (1967), 10, 3985
- 178) LATO M., BRUNELLI B., CIUFFINI G. - J. Chrom., (1969), 39, 407
- 179) LEPPER W., VORRATSPFLEGE U. - Lebensmittelforsch., (1939), 1, 599
- 180) LEPPER W. - Z. Lebensm. Untersucht. u. Forsch., (1943), 86, 247
- 181) LEPPER W. - Z. Lebensm. Untersucht. u. Forsch., (1949), 89, 264
- 182) LERNER M., HEMINGWAY C. - Unit. Nat. Doc. E/CN 7/476, (1965),
add. 1, nov. 1
- 183) LEVI A.A. - J. Soc. Chem. Ind., (1930), 49, 395
- 184) LILJEMARK A., WIDOFF E. - Am. Potato J., (1960), 37, 379

- 185) LOCCI - KUC - Phytopath., (1967), 57, 1272
- 186) LUISI M. - Gas Chrom. Horm. Ster., Ed. Dunod, (1968), 339
- 187) MA R.M., FONTAINE T.D. - Arch. Biochem., (1950), 27, 461
- 188) MAITI P., MOOKHERJEA S. - Indian J. Chem., (1968), 6, 547
- 189) MAKLEIT S., GAAL G.D., BOGNAR R. - Acta Chim. Hung., (1962), 33, 407
- 190) MAKLEIT S., BOGNAR R., MATHE I. - Herba Hung., (1967), 6, 13
- 191) MAKLEIT S., BOGNAR R. - Acta Phys. Chim. Debr., (1968), 14, 161
- 192) MARKER R.E., LOPEZ J. - J. Am. Chem. Soc., (1947), 69, 2389
- 193) MARTIN G.E., SWINEHART J.S. - Anal. Chem., (1966), 38, 1789
- 194) MASSINGIL J.L., HODGKINS J.E. - Anal. Chem., (1965), 37, 7
- 195) MASSON - Bull. Sci. Pharmacol., (1912), 283
- 196) MAUME B., WILSON W.E., HORNING E.C. - Anal. Letters, (1968), 1, 401
- 197) MENINI E., ORR J.C., GIBB R.C., ENGEL L.L. - Chrom. Gaz Horm. Ster.,
Ed. Dunod, (1968), 321
- 198) MEYER G. - Arch. Exp. Path. u. Pharm., (1895), 361
- 198a) MEYER K., BERNOUILLI F. - Pharm. Acta. Helv., (1961), 1, 80
- 199) MEYER J.A.W. - Planta Med., (1967), 15 suppl., 48
- 200) MONNET R., SABOU F., VIALA A. - Ann. Fals. Fraudes, (1955), 563,
485
- 201) MONTALBETTI N., PIOTTI L.E. - Chrom. Gaz. Horm. Ster., Ed. Dunod,
(1968), 292

- 202) MORGENSTERN F. - Landw. Vers. Sta., (1907), 65, 301
- 203) MORGENSTERN F. - Diss. Rostock. Botan. Center., (1908), 107
- 204) MOSKALEVA V.E., POGORELOVA O.V. - Rast. Resur., (1969), 5, 31
- 205) MOTHE K., SCHROTER H.B. - Abh. Deutsch. Akad. Wissenschaft. (1963),
4, 395
- 206) MUELLER G.P. - Exper., (1962), 18, 253
- 207) MUNIER, MACHEBOEUF - Bull. Soc. Chim. Biol., (1951), 33, 846
- 208) NAKAGAWA K., Mc NIVEN N.L., FORCHIELLI E., VERMEULEN A. - Steroids,
(1966), 7, 329
- 209) NAUMOV V.M. - Voprosy Pitaniya, (1938), 7, 208
- 210) NAVES Y.R. - Perf. Ess. Oil Record, (1958), 49, 290
- 211) NAVI P.P., SARLOS I.J., SOLOMON D., TURNER D.A. - Anal. Biochem.,
(1964), 7, 96
- 212) NITELEA I., CREANGA E., POPAL L. - Rom. 51,731 (Cl C.07d) 04 Juil.
1969, Appl. 31 Juil. 1967
- 213) ODDO G. - Gazz. Chim. Ital., (1911), 41, 490
- 214) ODDO G. - Ber., (1929), 62, 267
- 215) PALLMAN H., SCHINDLER R. - Schweiz. Bandw. Monatsh., (1942), 1, 21
- 216) PANINA V.V., MADAEVA O.S. - Khim. Farm. Zh., (1967), 1, 37
- 217) PASESHNICHENKO V.A. - Biokhim., (1957), 22, 981
- 218) PATT P., WINKLER W. - Arch. Pharm., (1960), 293, 846

- 219) PAYEN, CHEVALIER - J. Chim. Med., (1825), 1, 517
- 220) PEREZ-MEDINA I.L., TRAVECEDO E., DEVIA J.E. - Planta Med., (1964),
12, 428
- 221) PFANKUCH E. - Biochem. Z., (1937), 295, 44
- 222) PIERZCHALSKI T., WERNER E. - Hod. Roslin. Aklimat. i Hasienr.
(1958), 2, 157
- 223) PIFFERI P.G. - Anal. Chem., (1965), 37, 925
- 224) PIMENOVA T.B., PANINA J.J. - USSR 259878 (Cl C.07c) 22 déc. 1969
- 225) PINAR M. - Anales Real. Soc. Espan. Fis. Y Quim., (1956), 52B, 513
- 226) PINELLI A., NAIR P.P. - J. Chrom., (1969), 43, 223
- 227) PLYASHKEVICH A.M., ANTOSHINA V.A. - Med. Prom. SSSR., (1964),
18, 25
- 228) POGORELOVA O.V. - Farmatsiya, (1969), 18, 68
- 229) PRELOG V., JEGER O., dans MANSKE, The Alkaloids, Acad. Press.,
N.Y., (1953), 285
- 230) PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I., BARANOVA V.Z. - Biokhimiya,
(1952), 17, 362
- 231) PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I., BARANOVA V.Z. - Doklady Akad.
Wiss., USSR., (1952), 83, 261
- 232) PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I. - Doklady Akad. Nauk SSSR, (1956),
106, 313
- 233) RAGAZZI E., VERONESE G. - Farmaco (Pavia), Ed. pract., (1963),
18, 152

- 234) RASMUSSEN B.H., BOLL P.M. - Acta Chem. Scand., (1958), 12, 802
- 235) RIPPERGER H., BUDZIKIEWICZ H., SCHREIBER K. - Chem. Ber., (1967),
100, 1725
- 236) RIPPERGER H., SCHREIBER K., BUDZIKIEWICZ H. - Chem. Ber., (1967),
100, 1741
- 237) RIPPERGER H., SCHREIBER K. - Just. Lieb. Ann. Chem., (1969),
723, 159
- 238) ROCHELMEYER H. - Arch. Pharm., (1937), 275, 336
- 239) ROCHELMEYER H. - Arch. Pharm., (1939), 277, 329
- 240) ROCHELMEYER H. - Arch. Pharm., (1939), 277, 340
- 241) ROCHELMEYER H. - Gemeinschaftsverpfleg Volkerernähr, Kochwiss
(1944), 11 suppl., 69 - Chem. Zentr., (1944), II, 1188
- 242) RÖNSCH H., SCHREIBER K. - Tetrahedron Letters., (1965), 1497
- 243) RÖNSCH H., SCHREIBER K. - Phytochem., (1966), 5, 1227
- 244) RÖNSCH H., SCHREIBER K. - Anal. Chem., (1966), 694, 169
- 245) RÖNSCH H., SCHREIBER K. - J. Chrom., (1967), 30, 149
- 246) RÖNSCH H., SCHREIBER K. - Naturwiss., (1968), 55, 182
- 247) ROOKE H.S., BUSHILL J.H., LAMPITT L.H., JACKSON E.M. - J. Soc.
Chem. Ind., (1943), 62, 20
- 248) ROOKE H.S., BUSHILL J.H., LAMPITT L.H., JACKSON E.M. - J. Soc.
Chem. Ind., (1943), 62, 48
- 249) ROS A., MISURALE F., PAPADIA S., CAGNAZZO G. - Monit. Ostet. Ginecol.,
(1965), 36, 253

- 250) ROZUMEK K.E., SANDER H. - Arch. Pharm., (1967), 300, 316
- 251) ROZUMEK K.E. - J. Chrom., (1969), 40, 97
- 252) SABER A.H., BALBAA S.I., ZAKY A.Y. - Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ., (1963), 2, 51
- 253) SABER A.H., BALBAA S.I., ZAKY A.Y. - Planta Med., (1965), 13, 104
- 254) SABILITSCHKA Th., JUNGERMANN C. - Pharm. Ztg., (1925), 70, 272
- 255) SACHSE J., BACHMANN - Z. Lebensm. Unters. Forsch., (1969), 141, 262
- 256) SAIYED J.Z., KANGA D.D. - Proc. Indian. Acad. Sci. Sect. A., (1936) 4, 255
- 257) SANDER H. - Arch. Pharm., (1956), 289, 308
- 258) SANDER H. - Planta, (1956), 47, 374
- 258a) SANDER H. - Naturwissenschaften, (1958), 45, 59
- 259) SANDER H., ALKEMEYER M., HANSEL R. - Pharm. Acta Helv., (1960), 35, 30
- 260) SANDER H., ANGERMANN B. - Tagungsber. Deut. Akad. Landwirtschaftswiss, Berlin, (1961), 27, 163
- 261) SANDER H., HAUSER H., HANSEL R. - Planta Med., (1961), 9, 8
- 262) SANDER H. - Naturwissenschaften, (1961), 48, 303
- 263) SANDER H., WILLUHN G. - Flora, (1961), 151, 150
- 264) SANDER H., ALKEMEYER M., HANSEL R. - Arch. Pharm., (1962), 295, 6
- 265) SANDER H. - Planta Med., (1963), 11, 23

- 266) SANDER H. - Planta Med., (1963), 11, 303
- 267) SATO Y., LATHAM H.G. - J. Am. Chem. Soc., (1953), 75, 6067
- 268) SATO Y., LATHAM H.G., BRIGGS J.L.H., SEELYE R.N. - J. Am. Chem. Soc., (1957), 79, 6089
- 269) SATO Y., KANEKO H., BIANCHI E., KATAOKA H. - J. Org. Chem., (1969), 34, 1577
- 270) SCHINDLER W. - Brev. Geigy Ak. Ges. Suisse 328077, 15 avril 1958
- 271) SCHMERZLER E., YU W., HERWITT M.I., GREENBLATT I.J. - J. Pharm. Sci., (1966), 55, 155
- 272) SCHOLLER R., DEHENNIN L. - Chrom. Gaz. Horm. Ster. Ed. Dunod (1968), 21
- 273) SCHOLLER R., Del POZO D., NAHOUL K., SALVADOR P. - Chrom. Gaz. Horm. Ster. Ed. Dunod (1968), 267
- 274) SCHOWALTER E., HARTMANN W. - Z. Nahr Genussm., (1924), 47, 251
- 275) SCHREIBER K. - Chem. Ber., (1954), 87, 1007
- 276) SCHREIBER K. - Congr. Nat. Chim. Pure Appl. Paris 1957
Res. des Com. (1957), T. II, 225
- 277) SCHREIBER K. - Angew. Chem., (1957), 69, 483
- 278) SCHREIBER K. - Planta Med. (1958), 6, 94
- 279) SCHREIBER K. - Planta Med., (1958), 6, 435
- 280) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Arbeit. Bioch. U. Physiol. Der Alkaloide.
Halle. Mai 1960 - Abhandl. Deut. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem.
Geol. Biol. (1963), 4, 395

- 281) SCHREIBER K., ADAM G. - Tetrahedron Letters, (1960), 5
- 282) SCHREIBER K., RIPPERGER H. - Experientia, (1960), 16, 356
- 283) SCHREIBER K., HAMMER U., ITHAL E., RIPPERGER H., RUDOLPH W.,
WEISSENBOERN A. - Tagungsber. Deut. Akad. Landwirtschaftswiss.,
Berlin (1961), 27, 47
- 284) SCHREIBER K., HAMMER U., HOF U., ITHAL E., RUDOLPH W. - Tagungsber.
Deut. Akad. Landwirtschaftswiss., Berlin (1961), 27, 75
- 285) SCHREIBER K., ADAM G. - Experientia, (1961), 17, 13
- 286) SCHREIBER K., ADAM G. - Experientia, (1961), 17, 490
- 287) SCHREIBER K. - Z. Chem., (1963), 3, 346
- 288) SCHREIBER K. - Kulturpflanze, (1963), 11, 422
- 289) SCHREIBER K. - Kulturpflanze, (1963), 11, 451
- 290) SCHREIBER K. - Kulturpflanze, (1963), 11, 502
- 291) SCHREIBER K., ADAM G. - Lieb. Ann. Chem., (1963), 666, 155
- 292) SCHREIBER K., ADAM G. - Lieb. Ann. Chem., (1963), 666, 176
- 293) SCHREIBER K., AURICH O. - Z. Naturforsch., (1963), 18b, 471
- 294) SCHREIBER K., AURICH O., OSSKE G. - J. Chrom. (1963), 12, 63
- 295) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Tetrahedron Letters, (1963), 5, 329
- 296) SCHREIBER K. - Ann., (1964), 674, 168
- 297) SCHREIBER K., ADAM G. - Tetrahedron, (1964), 20, 1707

- 298) SCHREIBER K., AURICH O. - Kulturpflanze, (1964), 12, 473
- 299) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Chem. Ber., (1964), 97, 2362
- 300) SCHREIBER K., WALTHER A., RÖNSCH H. - Tetrahedron, (1964), 20, 1939
- 301) SCHREIBER K., RIPPERGER H., BUDZIKIEWICZ H. - Tetrahedron Letters, (1965), 3999
- 302) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Lieb. Ann. Chem., (1965), 681, 187
- 303) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Tetrahedron, (1965), 21, 645
- 304) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Arch. Pharm., (1965), 298, 285
- 305) SCHREIBER K., AURICH O. - Phytochem., (1966), 5, 707
- 306) SCHREIBER K., HORSTMANN C. - Chem. Ber. (1966), 99, 3183
- 307) SCHREIBER K., RIPPERGER H. - Tetrah. Letters, (1966), 5997
- 308) SCHREIBER K. - Alkaloids, Tome 10, (1968) 1 - Ed. Acad. Press., N.Y.
- 309) SCHREIBER K., RIPPERGER H. - Kulturpflanze, (1968), 15, 199
- 310) SCHULZ G., SANDER H. - Z. Physiol., (1957), 308, 122
- 311) SCHUSTER G. - Fr. M. 5,211 (Cl. A 61 k, C 07 g), 07 août 1967
- 312) SCHWARZE P. - Zuechter, (1962), 32, 155
- 313) SCHWER J., SCHOLLER R. - Chrom. Gaz. Horm. Ster., Ed. Dunod, (1968), 321
- 314) SCOTT W.E., MA R.M., SCAFFER P.S., FONTAINE T.D. - J. Am. Pharm. Assoc., (1957), 46, 302
- 315) SEARLE G.D. - Brit. 1,108,656 (Cl C.07 c), 3 avril 1968

- 298) SCHREIBER K., AURICH O. - Kulturpflanze, (1964), 12, 473
- 299) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Chem. Ber., (1964), 97, 2362
- 300) SCHREIBER K., WALTHER A., RÖNSCH H. - Tetrahedron, (1964), 20, 1939
- 301) SCHREIBER K., RIPPERGER H., BUDZIKIEWICZ H. - Tetrahedron Letters, (1965), 3999
- 302) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Lieb. Ann. Chem., (1965), 681, 187
- 303) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Tetrahedron, (1965), 21, 645
- 304) SCHREIBER K., RÖNSCH H. - Arch. Pharm., (1965), 298, 285
- 305) SCHREIBER K., AURICH O. - Phytochem., (1966), 5, 707
- 306) SCHREIBER K., HORSTMANN C. - Chem. Ber. (1966), 99, 3183
- 307) SCHREIBER K., RIPPERGER H. - Tetrah. Letters, (1966), 5997
- 308) SCHREIBER K. - Alkaloids, Tome 10, (1968) 1 - Ed. Acad. Press., N.Y.
- 309) SCHREIBER K., RIPPERGER H. - Kulturpflanze, (1968), 15, 199
- 310) SCHULZ G., SANDER H. - Z. Physiol., (1957), 308, 122
- 311) SCHUSTER G. - Fr. M. 5,211 (Cl. A 61 k, C 07 g), 07 août 1967
- 312) SCHWARZE P. - Zuechter, (1962), 32, 155
- 313) SCHWER J., SCHOLLER R. - Chrom. Gaz. Horm. Ster., Ed. Dunod, (1968), 321
- 314) SCOTT W.E., MA R.M., SCAFFER P.S., FONTAINE T.D. - J. Am. Pharm. Assoc., (1957), 46, 302
- 315) SEARLE G.D. - Brit. 1,108,656 (Cl C.07 c), 3 avril 1968

- 316) SEELKOPF C. - Arch. Pharm., (1968), 301, 111
- 317) ŠERÁK J., KUTÁČEK M. - Českoslov. Farm., (1958), 7, 322
- 318) SICHŮ V. - Průmysl. Potravin, (1956), 7, 223
- 319) SIMEK J. - Průmysl. Potravin, (1962), 13, 380
- 320) STAHL E., KALTENBACH U. - J. Chrom., (1961), 5, 351
- 321) STAHL E. - Thin Layer Chrom. - Springer. Verlag. Berlin, Heidelberg, N.Y., (1969)
- 322) SYHORA K., VYBÍRAL L., ČEKAN Z., PEK R. - Tchech. 96.169, 15 août 1960
- 323) SZLÁVIK L., VARGA J., VALOVICS G. - Hong. 150.458, 3 août 1961
- 324) SZLÁVIK L., KASKÓTÓ Z., VALOVICS G., SELMECI G., ACS K. - Herba Hung, (1966), 5, 218
- 325) TAYLOR D.A.H. - J. Am. Soc., (1958), 4216
- 326) THOMAS C. - Thèse Pharm. Paris, (1933)
- 327) THOMAS G.H., ALLEN J.G., HEITZMANN R.J., SENCIALI I.R. - Chrom. Gaz. Horm. Ster., Dunod (1968), 248
- 328) TOLDY L., RADICZ L. - Kem. Kozlemen, (1966), 26, 247
- 329) TOMKO J., VASSOVA A. - Chem. Zvesti, (1964), 18, 266
- 330) TOMKO J., ADAM G., SCHREIBER K. - J. Pharm. Sci., (1967), 56, 1039
- 331) TOMOVA M.P. - Planta Med., (1962), 10, 450
- 332) TOMOVA M.P. - Planta Med., (1964), 12, 543
- 333) TOMOVA M. - Farmatsiya, (1967), 17, 24

- 334) TRUHAUT R., SCHUSTER G., TARRADE A.M. - Ann. Pharm. Fr., (1967),
25, 621
- 335) TRUHAUT R., SCHUSTER G., TARRADE A.M. - Ann. Pharm. Fr., (1968),
26, 41
- 336) TUKALO E.A. - Sbor. Nauch. Trudov. Dnepropetrovsk Med. Inst.,
(1956), 1, 347
- 337) TUKALO E.A. - Sbor. Nauch Trudov. Dnepropetrovsk Med. Inst., (1958),
6, 371
- 338) TURAPIN M.L. - Gigiena i Sanit., (1951), 2, 40
- 339) TUSZON P. - Naturwissenschaften, (1956), 43, 198
- 340) TUSZON P., KISS Z. - Acta Chim. Acad. Sci. Hung., (1957), 12, 31
- 341) TUTIN F., CLEWER H.W.B. - J. Chem. Soc., (1914), 105, 559
- 342) UHLE F.C. - J. Am. Chem. Soc., (1961), 83, 1460
- 343) UHLE F.C. - J. Org. Chem., (1962), 27, 656
- 344) VALENTIN H. - Pharm. Zentr., (1933), 74, 611
- 345) VALOVICH N.A., BARTOK M.A. - Herba Hung., (1969), 8, 107
- 346) VAN DEN HEUVEL F.A., COURT A. - J. Chrom., (1963), 38, 439
- 347) VAN DEN HEUVEL F.A., COURT A. - J. Chrom., (1969), 39, 1
- 348) VAN DEN HEUVEL W.J.A., SWEELEY C.C., HORNING E.C. - J. Am. Chem.
Soc., (1960), 82, 3481
- 349) VAN DEN HEUVEL W.J.A., SJOVALL J., HORNING E.C. - Biochim. Biophys.
Acta., (1961), 48, 594

- 350) VAN DEN HEUVEL W.J.A., HORNING E.C., SATO Y., IKEKAWA N. -
J. Org. Chem., (1961), 26, 628
- 351) VAN DEN HEUVEL W.J.A., HORNING E.C. - J. Org. Chem., (1961), 26, 634
- 352) VAN DEN HEUVEL W.J.A., CREECH B.G., HORNING E.C. - Anal. Biochem.,
(1962), 4, 191
- 353) VAN DEN HEUVEL W.J.A., GARDINER W.L., HORNING E.C. - Anal. Chem.,
(1963), 35, 1745
- 354) VAN DEN HEUVEL W.J.A., GARDINER W.L., HORNING E.C. - J. Chrom.,
(1966), 25, 242
- 355) VAN DEN HEUVEL W.J.A. - Chrom. Gaz. Horm. Stér., Dunod (1968), 3
- 356) VAN DEN MOLEN H.J., VAN DER MASS J.H., GROEN D. - Eur. J. Steroids,
(1967), 2, 119
- 357) VAN DEN MOLEN H.J. - Chrom. Gaz. Horm. Stér., Dunod (1968), 161
- 358) VELDSMAN D.P., LOUW P.G.J. - J. South. Afric. Chem. Inst., (1949),
2, 119
- 359) VOLKOVO M.V. - Tr. Ivanosk Sel'Skhoz. Inst., (1962), 19, 21
- 360) WACLAW-ROZKRUTOWA B. - Diss. Pharm. Pharmacol., (1968), 20, 311
- 361) WEILL C.E., HANKE P. - Anal. Chem., (1962), 34, 1736
- 362) WEIL-SCHWANEN R. - Arch. Hyg. (1906), 38
- 363) WEIL-SCHWANEN R. - Arch. Pharm. (1908), 245, 70
- 364) WEYGAND F., KOLB B., PROX A., TILAK M.A., TOMIDA I. - Z. Phys.
Chem. (1960), 38, 322

- 365) WIERZCHOWSKI P., WIERZCHOWSKA Z. - Chim. Anal. (Varsovie), (1961),
6, 579
- 366) WILLUHN G. - Geol. Biol., (1966), 3, 97
- 367) WILLUHN G. - Planta Med., (1966), 14, 408
- 368) WILLUHN G. - Planta Med., (1967), 15, 58
- 369) WILLUHN G. - Planta Med., (1968), 16, 462
- 370) WILLUHN G. - Ber. Deut. Bot. Ges., (1969), 82, 657
- 371) WILSON W.E., JOHNSON S.A., PERKINS W.H., RIPLEY J.E. - Anal. Chem.
(1967), 39, 40
- 372) WILSON W.E., RIPLEY J.E. - Anal. Chem., (1969), 41, 810
- 373) ZITNAK A. - Can. J. Biochem. and Physiol., (1961), 39, 1257
- 374) ZSCHEILE F.P., COMAR C.L. - Bot. Gaz., (1941), 102, 463
- 375) ZWEUGER C. - Ann. Chem. Pharm., (1859), 244, 109
- 376) Farmatsiya, (1966), 16, 24
- 377) Handbook of Silylation GPA-3 - Pierce Chemical Company
- 378) IUPAC Commission on the nomenclature of organic chemistry (CNOC)
and IUPAC - IUB Commission on Biochemical nomenclature (CNB) -
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., (1970), 351, 663

T A B L E D E S M A T I E R E S

<u>INTRODUCTION</u>	1
Abréviations - valeurs statistiques utilisées - grandeurs chromatographiques	3
<u>C H A P I T R E I</u>	
<u>GLUCOALCALOIDES DES SOLANACEES</u>	6
<u>STRUCTURE DES ALCAMINES STEROIDIQUES DES SOLANACEES</u>	7
I - REGLES DE NOMENCLATURE ET DE REPRESENTATION	7
II - STRUCTURE DES ALCAMINES STEROIDIQUES	10
A - GROUPE DE LA SOLANIDANINE	11
B - GROUPE DE LA TOMATANINE	13
C - GROUPE DU SPIROSTANE	17
D - GROUPE DU CHOLESTANE	18
Alcamines dérivées du 22, 26-épiminocholestane	19
Alcamines dérivées du 22, 26-épamino - 16 α , 23-époxycholestane	20
E - ALCAMINES A STRUCTURE MAL DETERMINEE	21
III - RELATIONS STRUCTURALES ENTRE LES DIVERSES ALCAMINES ET AVEC CERTAINES SAPOGENINES	21
<u>STRUCTURE DES CHAINES OSIDIQUES</u>	24
- LE LYCOTETRAOSE	25
- LE SOLATETRAOSE	26
- LE CHACOTRIOSE	27
- LE POLYATRIOSE	29
- ENCHAINEMENTS OSIDIQUES NON ELUCIDES	30
<u>GLUCOALCALOIDES RENCONTRES CHEZ LES SOLANACEES</u>	31

C H A P I T R E I I

IDENTIFICATION ET DOSAGE DES GLUCOALCALOIDES DES SOLANACEES ET DE LEURS AGLYCONES

38

METHODES D'ANALYSE QUALITATIVE

39

I - DETECTION DES GLUCOALCALOIDES ET DE LEURS AGLYCONES

39

A - REACTIONS DUES A LA NATURE ALCALOIDIQUE DE L'AGLYCONE

40

B - REACTIONS DUES AU NOYAU STEROLIQUE

40

II - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

41

A - REACTIONS COLOREES SPECIFIQUES DES GLUCOALCALOIDES 5-ENES

42

B - FRACTIONNEMENT DES GLUCOALCALOIDES PAR ELECTROPHO- RESE SUR PAPIER

42

C - SEPARATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES PAR CHROMATOGRAPHIE

43

- Chromatographie sur colonne

43

- Chromatographie sur papier

43

- Chromatographie en couche mince

43

III - HYDROLYSE DES GLUCOALCALOIDES

48

- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

48

- CHOIX D'UNE METHODE

53

IV - IDENTIFICATION DES AGLYCONES

54

A - REACTIONS CARACTERISTIQUES

55

B - SEPARATION ET IDENTIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE

55

1 - La chromatographie sur papier

56

2 - La chromatographie en couche mince

56

3 - La chromatographie gazeuse

60

a - Appareillage

60

b - Support solide

62

c - Phase stationnaire

63

d - Transformation en dérivés

64

e - Résultats de nos essais

71

4 - Couplage de la chromatographie en couche mince avec la chromatographie gazeuse

77

V - ETUDE DE LA COMPOSITION DE LA CHAÎNE SUCREE

77

METHODES D'ANALYSE QUANTITATIVE

80

C H A P I T R E I I I

METHODES D'EXTRACTION DES GLUCOALCALOIDES

ET DE LEURS AGLYCONES

82

OBTENTION D'UN TOTUM GLUCOALCALOIDIQUE

83

I - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

A - EXTRACTION PROPREMENT DITE

84

B - PURIFICATION

86

II - EXTRACTION ANALYTIQUE DES GLUCOALCALOIDES

87

III - EXTRACTION PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES

87

A - CHOIX DES MATIERES PREMIERES

87

B - EXTRACTION PROPREMENT DITE

89

1 - Méthode utilisée

89

2 - Résultats

90

C - PURIFICATION

91

- Essais et choix d'une méthode

91

- Matières colorantes

94

- Résultats

95

FRACTIONNEMENT PREPARATIF ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

97

I - FRACTIONNEMENT PREPARATIF DES GLUCOALCALOIDES

97

A - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

97

- Précipitation des cholestérides

97

- Fractionnement par chromatographie sur colonne

98

B - ESSAIS ET CHOIX D'UNE METHODE

98

- Chromatographie sur colonne

98

- Chromatographie préparative en couche mince

101

II - CRISTALLISATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

103

A - CRISTALLISATION DES GLUCOALCALOIDES

103

B - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES

104

OBTENTION DES AGLYCONES

106

I - HYDROLYSE PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES

107

II - FRACTIONNEMENT PREPARATIF DES AGLYCONES	108
- DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	108
- FRACTIONNEMENT PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE	109
- FRACTIONNEMENT PAR CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE EN COUCHE MINCE	109

III - CRISTALLISATION ET IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES	110
---	-----

C H A P I T R E I V

<u>GLUCOALCALOIDES DE QUELQUES SOLANACEES INDIGENES</u>	115
---	-----

- Prélèvements	116
----------------	-----

<u>GLUCOALCALOIDES DE LA POMME DE TERRE</u>	118
---	-----

- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	118
-------------------------	-----

- RESULTATS DE NOS ESSAIS	122
---------------------------	-----

A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES	122
------------------------------------	-----

B - NATURE DES PRELEVEMENTS	122
-----------------------------	-----

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE	123
---	-----

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE	125
--	-----

1 - Analyse des germes de Pomme de terre de diverssés variétés	125
---	-----

2 - Analyse des différents organes de la Pomme de terre "KELTIA"	125
---	-----

<u>GLUCOALCALOIDES DE LA TOMATE</u>	127
-------------------------------------	-----

- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	127
-------------------------	-----

- RESULTATS DE NOS ESSAIS	127
---------------------------	-----

A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES	128
------------------------------------	-----

B - NATURE DES PRELEVEMENTS	129
-----------------------------	-----

C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE	129
---	-----

D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE	131
--	-----

1 - Analyse des baies vertes de Tomate provenant des "Maraichers Nantais"	131
--	-----

2 - Analyse des différents organes de la Tomate "La Nantaise"	132
--	-----

<u>GLUCOALCALOIDES DE LA MORELLE NOIRE</u>	135
- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	135
- RESULTAT DE NOS ESSAIS	138
A - ORIGINE DES MATIERES PREMIERES	138
B - NATURE DES PRELEVEMENTS	138
C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE	139
D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE	140
1 - Analyse des parties aériennes fleuries et portant des fruits verts de la première origine	140
2 - Analyse des différents organes de Solanum migrum var. suffruticosum Mons.	141
 <u>GLUCOALCALOIDES DE LA DOUCE-AMERE</u>	 143
- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	143
- RESULTATS DE NOS ESSAIS	147
A - ORIGINE DE LA MATIERE PREMIERE	147
B - NATURE DES PRELEVEMENTS	147
C - RESULTATS DE L'ANALYSE QUANTITATIVE	148
D - RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE	150
 <u>M O D E S O P E R A T O I R E S</u>	 153
I - DETECTION DES GLUCOALCALOIDES ET DE LEURS AGLYCONES	154
a) Réaction au trichlorure d'antimoine	154
b) Réaction au bleu de bromophénol	154
c) Séparation des glucoalcaloides et de leurs aglycones	154
II - IDENTIFICATION DES GLUCOALCALOIDES 5-ENES ET DE LEURS AGLYCONES - REACTION DE CLARKE	155
III - EXTRACTION ANALYTIQUE DES GLUCOALCALOIDES	155
IV - CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE DES GLUCOALCALOIDES	156
a) Méthode analytique	156
b) Méthode semi-préparative	158

V - HYDROLYSE DES GLUCOALCALOIDES	159
a) Dans le but d'identifier seulement le ou les aglycones libérés	159
b) Dans le but d'identifier l'aglycone et les sucres libérés	159
VI - SEPARATION DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE	160
VII - SEPARATION DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE	160
a) Préparation des dérivés acétylés	160
b) Préparation des dérivés triméthylsilylés	160
c) Fractionnement des alcalamines sur QF 1	161
VIII - COUPLAGE DE LA CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE AVEC LA CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE	162
IX - RECHERCHE DES CETOSES DANS UN HYDROLYSAT	162
X - SEPARATION ET EVALUATION SEMI-QUANTITATIVE DES OSES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE	162
XI - METHODES DE DOSAGE DES GLUCOALCALOIDES	163
a) Méthode colorimétrique de CLARKE	163
b) Méthode volumétrique au bleu de bromophénol	164
XII - EXTRAIT SEC ET POIDS SEC	165
XIII - PREPARATION DES GLUCOALCALOIDES BRUTS	165
XIV - PREPARATION DES GLUCOALCALOIDES PURIFIES	166
XV - SEPARATION PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE DES GLUCOALCALOIDES DE LA POMME DE TERRE ET DE LA TOMATE	166
XVI - FRACTIONNEMENT DES GLUCOALCALOIDES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE PREPARATIVE	167
XVII - CRISTALLISATION DES GLUCOALCALOIDES	168
XVIII - HYDROLYSE PREPARATIVE DES GLUCOALCALOIDES	168
XIX - FRACTIONNEMENT DES AGLYCONES DE LA TOMATE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE	169

XX - FRACTIONNEMENT DES AGLYCONES PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE PREPARATIVE	170
XXI - CRISTALLISATION DES AGLYCONES	170

<u>C O N C L U S I O N</u>	171
----------------------------	-----

<u>B I B L I O G R A P H I E</u>	
----------------------------------	--

Vu, le Président de Thèse

Vu, le Doyen de l'U.E.R.

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de NANTES

